

**UNTERSUCHUNGEN ZUM VERLAUF
DER DNA - SYNTHESE IN DEN EPITHELIIEN
VON DUODENUM , JEJUNUM , COLON UND ZUNGE
BEI WISTAR - RATTEN NACH 25 - STÜNDIGER
HYDROXYHARNSTOFF - DAUERINFUSION**

DIETER MÜLLER

1985

*Liss
München*

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. M. Eder

UNTERSUCHUNGEN ZUM

VERLAUF DER DNA-SYNTHESE IN DEN

EPITHELIIEN VON DUODENUM, JEJUNUM, COLON UND ZUNGE

BEI WISTAR-RATTEN NACH 25-STÜNDIGER

HYDROXYHARNSTOFF-DAUERINFUSION

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dieter M ü l l e r

aus München

München 1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Hartmut Rabes

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Max Eder

Dekan: Prof. Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 7.11.1985

Herrn Prof. Dr. med. H. Rabes danke ich für die Themenstellung, Anleitung und Beratung bei dieser Arbeit.

Besonderen Dank schulde ich auch Fr. B. Sickert und Fr. M. Metzger, die mit Sorgfalt und Geduld die Anfertigung der autoradiographischen Präparate besorgten.

Nicht zuletzt gilt mein Dank Fr. Eckhardt, die zusammen mit den technischen Assistentinnen Fr. Hajok und Fr. Schülgen den experimentellen Teil durchführte und mir freundlicherweise die Ergebnisse der Zungenepithelien zu Verfügung stellte.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Dr. Mildred Scheel-Stiftung, Deutsche Stiftung für Krebsforschung, durchgeführt.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. VORBEMERKUNG	2
2. EINFÜHRUNG	3
2.1. Klassifikation von Geweben	3
2.2. Physiologische Zellerneuerung	5
2.3. Hydroxyharnstoff	7
2.3.1. Geschichte	7
2.3.2. Wirkprinzip	8
2.3.3. Pharmakokinetik	10
3. MATERIAL UND METHODE	11
3.1. Versuchstiere und Material	11
3.2. Methode	12
3.2.1. Versuchsprinzip	12
3.2.2. Versuchsdurchführung	14
3.2.3. HU- und ³ H-Thymidin-Lösungen	17
3.2.4. Histologische Präparate und Autoradiographie	19
3.2.4.1. Herstellung der histologischen Präparate	19
3.2.4.2. Autoradiographische Grundlagen	20
3.2.4.3. Auswertung der Autoradiographien	20
4. ERGEBNISSE	23
4.1. Kurveneinzeldarstellungen	23
4.1.1. Vorbemerkung	23
4.1.2. Markierungsindex Duodenum	24
4.1.3. Mitoseindex Duodenum	27
4.1.4. Markierungsindex Jejunum	30

	Seite
4.1.5. Mitoseindex Jejunum	32
4.1.6. Markierungsindex Colon	33
4.1.7. Mitoseindex Colon	35
4.1.8. Markierungsindex Zunge	36
5. DISKUSSION	38
5.1. Wiederbeginn der DNA-Synthese nach HU-Dauer- infusion über 25 Stunden	38
5.2. Unterschreiten der hemmwirksamen HU- Konzentration	40
5.3. Analyse des Synchronisationsgrades	44
5.4. Höhe der ^3H -Thyminindices	51
5.5. Kurvenverhalten nach Passage der ersten S-Phase	55
5.6. Vergleich der Zeitabstände DNA-Synthesemaximum - Mitosemaximum	58
6. ZUSAMMENFASSUNG	59
7. ABBILDUNGEN UND TABELLEN	64
7.1. Abbildungen	64
7.2. Tabellen	69
8. LITERATURVERZEICHNIS	150
LEBENS LAUF	165

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

BG: Background

HU: Hydroxyharnstoff

mMol/kg (KG): mMol/kg (Körpergewicht)

MI: Markierungsindex

mZ.: markierte Zellen

aZ.: ausgewertete Zellen

TdR: 6-³H-Thymidin

t_S: Gesamtdauer der Synthesephase

Std. nHU: Stunden nach Ende der HU-Dauerinfusion

1. VORBEMERKUNG

Seit etwas mehr als zehn Jahren werden in der Tumorforschung Untersuchungen mit dem Modell der Hydroxyharnstoff (HU)-induzierten Synchronisation von Zellpopulationen durchgeführt. HU wird heute in der Therapie bestimmter Leukämieformen angewendet und ist bei der Untersuchung von Zellproliferationskinetiken als Hilfsmittel etabliert. Trotzdem gibt es noch Ergebnisse nachzutragen.

Die Versuche, die die Grundlage dieser Arbeit abgeben, wurden 1976 konzipiert, aber durch die Bearbeitung wichtigerer Fragestellungen in ihrer Auswertung aufgeschoben.

Statistisch abgesicherte, wissenschaftliche Resultate über die Proliferationskinetiken von Duodenum, Jejunum, Colon und Zunge nach HU-Dauerbehandlung liegen bis heute nicht in ausreichend erscheinender Form vor. Diese Arbeit stellt den Versuch dar, die Lücke zu schließen oder zumindest zu verkleinern.

2. EINFÜHRUNG

2.1. Klassifikation von Geweben

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung des Verhaltens der Zellen einiger Wechselgewebe der Ratte nach Beeinflussung des Zellteilungszyklus durch Dauerinfusion von Hydroxyharnstoff (HU).

Die Gesamtheit der Zellen im Körper höher entwickelter Lebewesen wird nach ihrer Regenerationsfähigkeit in drei Klassen eingeteilt (Bizzozero 1894):

- a) Wechselgewebe: eine labile Zellpopulation, die einer relativ raschen und lebenslang andauernden Zellerneuerung unterliegt.
- b) Stabile Gewebe: Gewebe mit stabilen, in bestimmter Form ausdifferenzierten Zellen, langsamem Zellumsatz und geringer Erneuerungsrate (also zu reparativer Regeneration fähig).
- c) statische Gewebe: eine ruhende Zellpopulation ohne Zellvermehrung, zur physiologischen oder reparativen Regeneration nicht mehr befähigt.

Durch genaueres Studium des Zellteilungsverhaltens differenzierte Cowdry (Cowdry 1942 u. 1953) feiner in:

1) Intermitotische Zellen, davon

1a) vegetativ-intermitotische Zellen: Sie teilen sich auch im adulten Organismus fortgesetzt und werden u.a. durch die Epithelien der Lieberkühnschen Krypten in Duodenum, Jejunum und Colon sowie dem Stratum basale des geschichteten Plattenepithels repräsentiert

1b) differenziert-intermitotische Zellen: z.B. Spermatozyten 1. u. 2. Ordnung, sie differenzieren sich bei gleichzeitiger Zellteilung weiter aus zu schließlich der zweiten Obergruppe zugehörigen Zellen.

2) Postmitotische Zellen: Hier wird unterteilt in:

2a) reversibel-postmitotische Zellen: die bereits aufgegebene Teilungsfähigkeit kann zu Zwecken der Reparatur oder bei Hyperplasie wiedererlangt werden (z.B. Epithelien von Leber und Niere).

2b) fixiert-postmitotische Zellen: Das Teilungsvermögen ist verloren gegangen. Auch bei Schädigungen kann kein Zellersatz mehr erfolgen (z.B. ZNS-Ganglienzellen, Herz und Skelettmuskelzellen).

2.2. Physiologische Zellerneuerung

Um Effekte zu überprüfen, die ein Wirkstoff auf das Regenerationsverhalten von Zellpopulationen hat, bieten sich Zellen mit schneller Generationsfolge, also Wechselgewebe an. Die hier ausgewählten Epithelzellen von Duodenum, Jejunum, Colon und Zunge der Wistar-Ratte gehören diesem Gewebstyp an. Die physiologische Zellerneuerung im Verdauungstrakt kann als gut untersucht gelten (Bertalanffy 1960, Bizzozero 1894, Eder 1966, Leblond u. Stevens 1948, Leblond et al. 1959, Messier u. Leblond 1960, Oehlert u. Büchner 1961, Quastler u. Sherman 1959, Schultze u. Oehlert 1960).

Am Grund der Darmschleimhautkrypten teilen sich dazu befähigte Zellen. Ein bestimmter Prozentsatz bildet den Regenerationspool, er bleibt an Ort und Stelle, um die nächste Teilung zu durchlaufen. Ein anderer Teil wandert im Lauf der Zeit auf die Zotten aus, bzw. nähert sich beim Colon dem Kryptenrand, wo er seine Teilungsfähigkeit verliert. Nach Erfüllung ihrer Aufgabe als Schleimhautepithelzellen werden sie in das Darmlumen abgestoßen. Verursacht durch diesen Kreislauf von Zellverlust und -erneuerung befindet sich das Epithel in einem als 'steady-state' bezeichneten Zustand des Fließgleichgewichts.

Bei der Zungenschleimhaut befindet sich der Ort der Zellerneuerung im Stratum basale (Oehlert u. Büchner 1961). Die Hälfte der neu entstandenen Generation von Zellen passiert Stratum spinosum und Stratum granulosum, wobei sie ihre Teilungspotenz bereits eingebüßt haben, um im Stratum corneum zu verhornen und nach angemessener Zeit abgeschilfert zu werden.

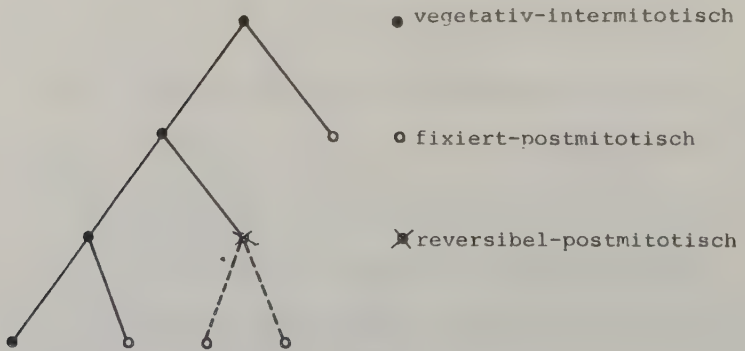


Abb.1: Zellersatz der Darmschleimhaut und des mehrschichtigen Plattenepithels der Zunge.

— normaler Zellteilungsablauf

--- fakultativ, bei Reparatur oder Hyperplasie

● veget.-intermitot.Z.: Regenerationspool der Darmkrypten oder Stratum basale der Zunge

○ fix.-postmitot.Z.: Zotten (Dünndarm) bzw oberes 1/3 Dickdarmkrypte oder Stratum granulare (Zunge)

⊗ revers.-postmitot.Z.: Krypten (Dünndarm) bzw untere 2/3 Dickdarmkrypte oder Stratum spinosum (Zunge)

2.3. Hydroxyharnstoff

2.3.1. Geschichte

Untersuchungen zellzyklusspezifischer Abläufe lassen sich am geeignetsten in sich synchron vermehrenden Zellsystemen durchführen. Säugerzellen zeigen eine solche Gleichzeitigkeit physiologischerweise nicht. Deshalb wurden Versuche unternommen, eine künstliche Synchronie zu erzeugen. Dies Ziel läßt sich auf unterschiedliche Art und Weise verwirklichen. Die Methode der mechanischen Isolation mitotischer Zellen aus Zellkulturen wird zur Erzeugung von Zellpopulationen mit gleichzeitiger Zellteilung angewandt (Cress u. Gerner 1979, Terasima u. Tolmach 1963, Walters et al. 1976). Bekannt, z.B. aus der Therapie maligner Tumore, ist der Versuch, Zellen in bestimmten Phasen ihres Zyklus durch Hemmung spezifischer Reaktionen mittels verschiedener Pharmaka anzuhäufen und sie nach Entzug der jeweiligen Droge gemeinsam in die weiteren Vermehrungszyklen zu entlassen. Auch die Anwendung von HU bietet die Möglichkeit, Zellpopulationen zu synchronisieren.

Hydroxyharnstoff wurde 1869 von Dresler und Stein

erstmalig synthetisiert (Dresler u. Stein 1869).
Rosenthal u.a. konnten 1928 zeigen (Rosenthal et al. 1928), daß der Stoff bei Verabreichung das Blutbild ähnlich dem der Perniziösen Anämie verändert und eine Verminderung der Leukozyten hervorruft. Erst später wurde durch Arbeiten von Stock et al. (1960) die Möglichkeit des Einsatzes in der Tumorthherapie erkannt und erprobt.

2.3.2. Wirkprinzip von HU

Wirkprinzip des HU ist die Blockade proliferierender Zellen beim Übergang von der G_1 -Phase in die DNA-Synthesephase durch spezifische Hemmwirkung auf die DNA-Synthese. Über den tatsächlichen Wirkmechanismus und Zeitpunkt sind unterschiedliche Theorien und Arbeiten mit zum Teil von einander abweichenden Ergebnissen veröffentlicht worden (Coyle u. Stauss 1970, Cress u. Gerner 1979, Kim et al. 1967, Krakoff et al. 1968, Walters et al. 1976, Yarbrow 1968, Young u. Hodas 1964, Young et al. 1967). Die Hemmung der DNA-Synthese ist reversibel. Als ein wesentlicher Mechanismus hat sich dabei die Inhibition der Ribonucleosiddiphosphat-Reductase herausgestellt (Krakoff et al. 1968, Sinclair 1967). Verschiedene Gewebe reagieren unterschiedlich.

Besondere Empfindlichkeit zeigen Gewebe mit einer hohen zellulären Proliferationsrate (Knochenmark, intestinale Krypten, Keimzentren lymphatischer Gewebe) (Farber u. Baserga 1969, Philips et al. 1967). Den Eintritt des Wirkung verursacht HU selbst oder ein Metabolit. Notwendig scheint ein $p_K=8,4$ und die Gruppe $-C-N \begin{smallmatrix} H \\ \diagup \\ OH \end{smallmatrix}$ zu sein (Hill u. Gordon 1968, Young et al. 1967). Von der Hemmung nicht wesentlich beeinflusst ist die Protein- und RNA-Synthese (Pfeiffer u. Tolmach 1967, Sinclair 1965, Young u. Hodas 1964). Es resultiert ein Aufstau einer bestimmten Anzahl von Zellen an der G_1/S -Grenze. Eintritt und Dauer der Hemmwirkung variiert in direkter Abhängigkeit von der Höhe der applizierten Dosis; die Zeitspanne der Verfügbarkeit der Droge ist von untergeordneter Bedeutung (Belt et al. 1980, Ford u. Shackney 1977, Kim et al. 1967, Philips et al. 1967, Sinclair 1965). Zellen, die sich zum Zeitpunkt des Wirkungseintritts von HU in der DNA-Synthesephase befinden, können diese nicht beenden, sie sterben ab oder vollenden nach Aufhebung des Blocks ihre Synthese (Ford u. Shackney 1977, Hartenstein et al. 1977, Kim et al. 1967, Rajewsky 1970, Rajewsky et al. 1971 u. 1972, Sinclair 1965 u. 1967, Young u. Hodas 1964). Als limitierend hinsichtlich der Höhe einer maximal

tolerierten Dosis erweist sich in der Klinik die Suppression der weißen Blutzellreihe (Belt et al. 1980, Bersagel et al. 1964, Fishbein et al. 1964). Auf Zellebene kommt es durch hohe Konzentrationen zu direkter DNA-Schädigung im Zusammenhang mit N-Carbamoyloxyurea, einem HU-Oxydationsprodukt (Jacobs et al. 1970, Rosenkranz et al. 1969). Zellschädigung tritt auch ein, wenn sich die Länge des Behandlungszeitraums der Dauer der Zellgenerationszeit nähert. Verantwortlich dafür wird das Mißverhältnis fortgesetzter Protein- und RNA-Synthese bei inhibierter DNA-Synthese ('unbalanced growth') gemacht (Rueckert u. Müller 1960). Der DNA-Schaden wird meist nur kurzzeitig toleriert.

2.3.3. Pharmakokinetik

Nach i.v. Injektion/Infusion verteilt sich HU sehr schnell gleichmäßig im gesamten Körperwasser. Eliminiert wird er durch Leber und Niere. Die renale Filtration dominiert bei höheren Konzentrationen, der Metabolismus in Leber und auch Niere bei niedrigem Serumspiegel (Adamson et al. 1965, Colvin u. Bono 1970, Philips et al. 1967). Die Halbwertszeit bewegt sich um 80 Minuten. Dieser Wert wurde von Rabes u.a. (Rabes et al. 1977) an Ratten desselben Stammes der

hier verwandten Tiere bei identischer Dosis und Infusionsdauer ermittelt. Philips u.a. (Philips et al. 1967) berichten in Abhängigkeit vom Plasmaspiegel von zwei verschiedenen Halbwertszeiten von 65 Minuten über 150 $\mu\text{g/ml}$ und 30 Minuten unterhalb von 100 $\mu\text{g/ml}$. Die Kürze ihrer Dauer stellt eine wesentliche Voraussetzung zur Durchführung von Synchronisationsversuchen dar.

3. MATERIAL UND METHODE

3.1. Versuchstiere und Material

80 männliche Wistar-Ratten des Inzuchtstamms AF/Han aus dem Tierstall des Pathologischen Instituts der LMU in München wurden im Alter von ca. 8 Wochen, mit einem Gewicht zwischen 200-220g für die Versuchsreihe ausgewählt. Den Tieren wurde Altromin-R-Standard-Diät (Altromin, Lippe, Lage) und Wasser ad libitum verfüttert.

Als Infusion wurde Hydroxyharnstoff (reinst, Fa. Serva Feinbiochemica, Heidelberg) jeweils nach Bedarf frisch in 0,89 % NaCl gelöst, verabfolgt. Kontinuierliche Infusion wurde durch ein Perfusionsgerät (Perfusor IV, Venofix Kanüle No. 72500, Braun, Melsungen)

mit einer Infusionsrate von 0,56 ml/Std. gewährleistet.

Das zur Markierung verwendete ^3H -Thymidin wurde als 6- ^3H -Thymidin mit der spezifischen Aktivität von 5 Ci/mMol von The Radiochemical Centre, Amersham, England bezogen. Die Beschichtung der Präparate für die autoradiographische Auswertung erfolgte mit Ilford K2 Emulsion (Ilford, Essex, England).

3.2. Methode

3.2.1. Versuchsprinzip

Die experimentellen Arbeiten wurden von den Mitarbeitern der Abteilung durchgeführt. Die dabei angewendeten Methoden werden hier zusammenfassend dargestellt.

Alle Ratten erhielten eine HU-Dauerinfusion über 25 Stunden, da nach dieser Zeitspanne bei einer durchschnittlichen Generationszeit der Epithelzellen des Verdauungstrakts von 15-18 Std. (Bertalanffy 1960, Dethlefsen u. Riley 1973, Eder 1966, Pilgrim et al. 1965, Pilgrim u. Maurer 1965) und der basalen Zellschicht des Zungenepithels von ca. 24 Std. (Oehlert u. Büchner 1961) ein Maximum an Synchronisation zu

erwarten ist, da dann theoretisch alle Zellen ihren Teilungszyklus bis zur Arretierung an der G_1 -S-Phasengrenze durchlaufen haben. Demgegenüber werden bei Verabreichung von HU-Einzeldosen mit einer Dauer der Hemmwirkung von ca. 4-5 Std. (Dethlefsen u. Riley 1973, Philips et al. 1967) nur die während dieser Zeitspanne sich akkumulierenden Zellen nach Blockende in die S-Phase entlassen. Erreicht die Blockierungsdauer der Zellentwicklung jedoch die Länge des gesamten Zellzyklus oder hält sie länger an, so sterben vermehrt Zellen ab (Baccetti u. Whitmore 1969, Kim et al. 1967, Pfeiffer u. Tolmach, Rosenkranz et al. 1968). Die HU-Infusionsdauer von 25 Std. hat sich in Versuchsreihen (Rabes et al. 1977) als guter Kompromiß hinsichtlich größtmöglicher Synchronisation und geringster zu erwartender Toxizität herausgestellt. Die hier vorliegenden Versuche wurden gemäß der von Rabes et al. (1977) festgelegten Kriterien (Dauer, Dosis, Technik, Tiere) durchgeführt. Ausführliche Angaben über die HU-Serumkonzentration bei Beginn, während und nach Versuchsende finden sich dort.

Als Kontrolle diente eine Gruppe von vier Tieren, die ohne vorausgehende Behandlung ^3H -Thymidin intraperitoneal gespritzt bekam.

3.2.2. Versuchsdurchführung

Die Kanülen wurden in den Schwanzvenen der Ratten placiert. Dazu wurden die Tiere mit Äther narkotisiert und ihr Schwanz durch ein mit einem Gummiring gepolstertes Loch in der Seitenwand aus dem Käfig (Macrolon 22 x 17 x 12 cm) geleitet und mit Heftpflaster befestigt. Im Abstand einiger Zentimeter vom Schwanzansatz wurde die Vene auf einer Länge von ca. 2 cm vorsichtig freipräpariert. Die Kanüle eines Infusionsbestecks wurde unter Sichtkontrolle in die Vene gelegt. Nach Kontrolle der exakten Lage wurde die Nadel unmittelbar hinter der Schnittstelle fixiert.

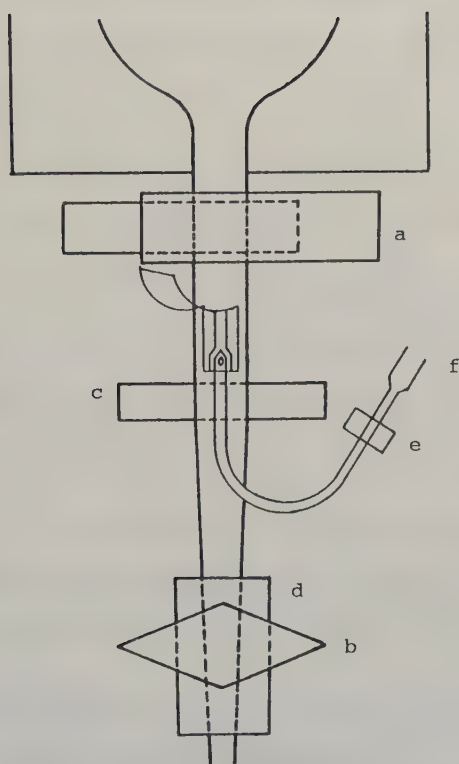


Abb.2: Das Tier in Seitenlage, narkotisiert
im Käfig; Vene freipräpariert;
Schwanz mit Klebestreifen befestigt.
a-e: Pflaster; f: Perfusoranschluß.
(Nach Iseler 1977)

Abgesehen vom außerhalb des Käfigs liegenden Schwanz konnten sich die Tiere frei im Käfig bewegen und Futter und Wasser nach Belieben aufnehmen. Dann erhielten die Tiere eine HU-Initialinjektion erhöhter Dosis (1,69 mMol/kg Körpergewicht) und eine unmittelbar folgende Nachinjektion mit physiologischer NaCl-Lösung, dem doppeltem Volumen des Perfusorbestecks entsprechend (0,3 ml). Nach luftfreiem Anschluß des Perfusors lief dann die sich über 25 Stunden erstreckende HU-Dauerinfusion mit der Konzentration von 1,25 mMol/kg (KG)/Std. Nach deren Ende wurde die im Infusionsbesteck verbliebene HU-Menge durch Nachspritzen von Kochsalz (0,89 %) in die Rattenvene gespült, wobei gleichzeitig auf Flüssigkeitsaustritt zur Kontrolle der exakten Katheterlage geachtet wurde. Demselben Zweck diente eine abschließende Blutaspiration.

Es wurden Gruppen zu je vier Tieren gebildet, die in stündlichen Abständen bis zu 17 Stunden nach Ende des HU-Blocks getötet wurden. Eine Stunde vor der Tötung erfolgte die intraperitoneale Injektion von ^3H -Thymidin. Diese Methode ist gerade für die Untersuchung des Gastrointestinaltrakts von Vorteil, da sie zu einer erhöhten Thymidinaufnahme dieser Organe gegenüber z.B. subcutaner Injektion führt (Hinrichs et al. 1964).

Der Tötungsabstand von einer Stunde erscheint gerechtfertigt, da in den ersten 20 bis 30 Minuten nach Injektion der größte Teil des ^3H -Thymidins inkorporiert wird (Kisieleski et al. 1961). Nach 40 bis 60 Minuten läßt sich eine Steigerung des Einbaus nicht mehr nachweisen (Koburg u. Maurer 1962, Quastler u. Sherman 1959). Das nicht durch DNA-Synthese verbrauchte Thymidin wird zu Thymin, das von der Zelle nicht verstoffwechselt wird und anderen Produkten abgebaut (Kim et al. 1967, Pelc u. Appleton 1967, Rubini et al. 1960, Staroscik et al. 1964). Tiere der ersten Gruppe erhielten die Injektion unmittelbar nach Ende der HU-Infusion. Zur Kontrolle einer wirksamen Unterdrückung der DNA-Synthese unter den gewählten Bedingungen erfolgte die Gabe des ^3H -Thymidins auch während der HU-Infusion zur 23. und 24. Stunde.

3.2.3. HU- und ^3H -Thymidin-Lösungen

Die Herstellung der HU-Lösung erfolgte jeweils kurz vor der geplanten Anwendung. HU wurde originalverpackt im Kühlschrank bei 4°C gelagert, um Wassereinlagerungen des hygroskopischen HU zu vermeiden. Die vom Körpergewicht der Tiere abhängigen, notwendigen Mengen wurden abgewogen und in physiologischer

Kochsalzlösung gelöst. Die fertige Mischung wurde im Kühltank aufbewahrt. Auch während der Infusion befanden sich die Perfusionsgeräte im Kühltank. Mit Zersetzung und Wirkungsverlust des HU, während der Infusion, wurde nicht gerechnet, da Vergleiche unter dem Aspekt der Cytotoxizität für Hamsterzellkulturen mit einer für 24 Stunden auf 37⁰ C erwärmten HU-Lösung keine unterschiedlichen Ergebnisse erbrachten (Sinclair 1967). Da die Perfusionspumpen pro Zeiteinheit konstante Volumenmengen transportierten, mußte die dem Körpergewicht der einzelnen Tiere gemäße unterschiedliche Menge HU-Stammlösung durch Kochsalzlösung auf ein einheitliches Volumen ergänzt werden.

Auf Erfahrungen aus bereits veröffentlichten Arbeiten beruhend (Rabes u. Tuzcek 1970, Rabes et al. 1977) wurde eine Dosis von 0,8 μ Ci/g Körpergewicht des ³H-Thymidins injiziert. Durch Verdünnen der Injektionslösung der Originalampulle (1 mCi/ml) mit 4 ml 0,89 % NaCl ergab sich die anzuwendende Lösung zu 0,2 mCi/ml.

3.2.4. Histologische Präparate und Autoradiographie

3.2.4.1. Herstellung der histologischen Präparate

Alle 60 Minuten nach Absetzen des HU wurden vier Tiere durch Nackenschlag getötet, ihre Organe entnommen. Duodenum, Jejunum, Colon wurden in 10 % Formol-lösung und inaktivem Thymidin (0,1 mg/ml), Zunge in 4 % Formol und inaktivem Thymidin eine Woche lang eingelegt, in Paraffin eingebettet und zugeschnitten. Die auf Objektträger aufgebrachten und luftgetrockneten Schnitte (3 μ m) wurden nach Entparaffinierung in der Dunkelkammer bei rel. Luftfeuchtigkeit von 60 % und 20° C Raumtemperatur nach dem 'Dipping' - Verfahren mit auf 45° C erwärmten und 1:1 mit Aqua dest. verdünnter Ilford K2 Emulsion beschichtet. Nach Lufttrocknung (2 Std.) wurden die Präparate 14 Tage bei Dunkelheit im Kühlschrank bei 4° C durch die Strahlung des inkorporierten, radioaktiven ³H-Thymidins 'belichtet' und danach 12 Min. mit Amidol entwickelt, gewässert, fixiert und erneut für 30 Min. gewässert. Auf eine Spülung mit Aqua dest. folgte nach eintägiger Lufttrocknung eine nach Harris modifizierte Färbung (Hämatoxilinlösung 30 Min; 20 sec. Differenzierung in 1 % HCl- Alkohol; Wässern 20 Min; Gegenfärben mit 0,5 % Eosin 3 Min; aufsteigende

Alkoholreihe; Xylol; Eindecken mit Eukitt (Kindler Freiburg Brsg.).

3.2.4.2. Autoradiographische Grundlagen

Radioaktives ^3H -markiertes Thymidin (β -Strahler) wird der Zelle zum Einbau in die DNA angeboten. Nach Aufarbeitung der verschiedenen Tierorgane zu histologischen Präparaten, werden letztere mit einer strahlungsempfindlichen Emulsion bedeckt. In die Gelatine dieser Emulsion sind Silberbromidkristalle eingelagert. Beim radioaktiven Zerfall emittierte, freie Elektronen werden von dem Kristallgitter des Silberbromids aufgefangen. Ein solchermaßen negativ geladenes Kristall fungiert als "Kathode" an der sich Silberionen abscheiden. Das nicht reduzierte Silberbromid wird beim Fixieren in lösliche Komplexverbindungen überführt und ausgeschwemmt (Schultze 1968). Zur Identifikation der relevanten histologischen Strukturen erfolgt anschließend die Färbung der Präparate.

3.2.4.3. Auswertung der Autoradiographien

Im Rahmen dieser Dissertation wurde die Auswertung der vorliegenden autoradiographischen Präparate vorgenommen.

Jedes der fortlaufend durchnummerierten Tierorgane

(A,B,C,D₁-a,b,c,d₁₆) wurde zunächst in 100-facher Vergrößerung auf histologische Veränderungen (Entzündungen, Degeneration usw.) und Eignung zur Auswertung hin durchgemustert. Daraufaufgehend wurden zwei nicht zusammenhängende Areale von je 1000 Zellen mit Hilfe eines Okularrasters bei 400-facher Vergrößerung (Ölimmersionsobjektiv 40-fach x Rasterokular 10-fach) ausgezählt und jeweils das Verhältnis markierter Zellen zur Gesamtzahl bestimmt (Formel: Markierungsindex % = $\frac{\text{markierte Zellen}}{\text{Gesamtzellzahl}} \times 100$), also insgesamt acht Markierungsindices pro Zeitpunkt, aus denen das Mittel errechnet wurde. Als markiert wurde jede Zelle definiert, deren Kern durch mehr Silberkörner als dem Dreifachen des Background (BG) (d.h. Zahl der Silberkörner auf einer der Zellkerngröße entsprechenden Fläche des Parenchyms $\hat{=}$ Nulleffekt) und mindestens sechs Silberkörner markiert war. Die Präparate wurden bei höherem BG (mehr als 3-4 Silberkörner/Zellkernfläche) neu geschnitten und entwickelt, bis diese Anzahl erreicht bzw. unterschritten war. Die überwiegende Zahl der Präparate zählte schließlich einen BG von 1-2 Silberkörner/Zellkernfläche. Die Festlegung einer derartigen Markierungsschwelle ist willkürlich, jedoch als tauglich zu betrachten und in der Literatur wiederholt praktiziert (Bryant 1963, Fabrikant 1967 u. 1968, Hilscher et al. 1972, Moore 1971, Rabes 1969).

Fehlerhafte, 'falsch positive' Markierungen können prinzipiell hervorgerufen werden durch Artefakte, Background, Reutilisation von ^3H -Thymidin aus bereits wieder zerfallenen Zellen, auch die Kombination der verschiedenen Ursachen ist möglich. Die 'korrekte' Markierung von Zellkernen, d.h. der beabsichtigte Einbau von injiziertem ^3H -Thymidin und dessen Registrierung durch autoradiographische Verfahren hängt von vielerlei Faktoren ab. Es spielen eine Rolle: die Poolgröße des Thymidin-Vorläufers (Steel u. Lamerton 1965, Stone et al. 1965), die Injektionstechnik (i.v. oder i.p.) (Hinrichs et al. 1964), Autoradiographietechnik (Pelc 1957, Schultze 1968), Expositionszeit und Entwicklung (Moore 1971), die Beschaffenheit des Films (Schultze 1968), die Dicke der histologischen Schnitte (mittlere Reichweite von Tritium- β - Strahlung ca $1\text{ }\mu\text{m}$) und β -Selbstabsorption (Maurer u. Primbsch 1964). Eine Literaturübersicht über Autoradiographietechnik findet sich bei Schultze (Schultze 1968). Bei der Zunge wurde das Plattenepithel der Zungenoberseite ausgewertet, jedoch nur die basale Zellschicht an Schnitten, an denen diese eindeutig zu erkennen war.

Von den Organabschnitten Duodenum und Jejunum wurden die Zellen des Schleimhautkryptenepithels der

unteren 3/4 der Regenerationszone entsprechend berücksichtigt, beim Colon das untere Drittel der Lieberkühnschen Krypten (Eder 1966, Schultze u. Oehlert 1960).

4. ERGEBNISSE

4.1. Kurveneinzeldarstellungen

4.1.1. Vorbemerkung

Bekannt ist die unterschiedliche Reaktion gleichartiger Zelltypen in vitro (Ford u. Shackney 1977, Kim et al. 1967, Pfeiffer u. Tolmach 1967, Sinclair 1965) und in vivo (Farber u. Baserga 1969, Hartenstein et al. 1977, Philips et al. 1967) in Abhängigkeit von der Höhe der HU-Konzentration. Das gleiche gilt für unterschiedliche Gewebearten (Philips 1967) bei unterschiedlicher oder gleicher HU-Konzentration. Die folgenden Resultate geben Aufschluß über das Proliferationsverhalten des Epithels von Duodenum, Jejunum, Colon und Zunge der Wistar-Ratte nach 25-stündiger HU-Dauerinfusion bei gleichbleibender Dosierung. Alle Organabschnitte sind dem Zelltyp der Wechselgewebe zuzurechnen.

4.1.2. Markierungsindex Duodenum (vgl. Abb.Nr.3, Tab.S. 70f.)

Während der HU-Infusion konnte autoradiographisch am Duodenum keine DNA-Syntheseaktivität nachgewiesen werden, obwohl eine vollständige Hemmung der DNA-Synthese auch bei maximal wirksamen Dosen unter Dauerinfusion nicht zu erwarten ist (Rajewsky et al. 1971). Die vier unmittelbar nach der Beendigung der HU-Infusion mit ^3H -Thymidin injizierten Tiere (Stunde 0 nach HU-Infusion $\hat{=}$ Std. 0 nHU) zeigen eine, wenn auch geringe, DNA-Syntheseaktivität. Der Markierungsindex (MI) beträgt 0,3 %. Jeweils einer der pro Tier bestimmten zwei Indices ergab einen positiven Wert. Eine Stunde später (Std. 1 nHU) tragen alle acht Indices zum Zustandekommen des Mittelwertes von 1,11 % bei. Zur Std. 2 nHU steigt der Gesamtindex auf 2,89 % an. Zwischen Std. 2 nHU und Std. 3 nHU läßt sich eine markante quantitative Veränderung registrieren: der MI nimmt um 4,18 % zu gegenüber 0,81 % und 1,38 % der vorangehenden Stunden. Für Std. 3 nHU ergibt sich der Wert 7,07 %. Über einen MI von 7,57 % zur Std. 4 nHU wird ein erstes Maximum des Kurvenverlaufs zur Std. 5 nHU mit 12,66 % erreicht. Es bildet sich ein Plateau von einer Stunde Dauer - der MI der Std. 6 nHU liegt mit 12,57 % nur unwesentlich niedriger.

Der abfallende Schenkel ist steiler und kürzer ausgeprägt. Binnen 2 Stunden langt er mit 4,28 % zur Std. 8 nHU bei einem erneuten Wendepunkt an und beginnt sofort wieder leicht zu steigen. Ab Std. 13 nHU ist wieder ein deutlicher Zuwachs an DNA-synthetisierenden Zellen zu beobachten. Der höchste Punkt der gesamten Kurve ist gleichzeitig der letzte des Beobachtungszeitraums (Std. 16 nHU: 22,87 %). Die Streuung der Einzelwerte zwischen Std. 7 nHU und 12 nHU ist relativ gering, vergrößert sich dann aber beträchtlich. Dieses Verhalten kann als Verlassen eines relativen 'steady state' in diesem Zeitraum aufgefaßt und auf die sich immer noch auswirkende, synchronisierende Wirkung von HU zurückgeführt werden, die jedoch an Schärfe verliert (größere Streuung der Einzelwerte gegenüber denen des ersten Anstiegs). Die Tendenz beider ansteigender Kurventeile Std. 0-6 nHU und Std. 8-16 nHU ist mit 2,11 %/Stunde bzw. 2,32 %/Stunde annähernd gleich.

Der Markierungsindex der nicht mit HU-Dauerinfusion behandelten Tiere beträgt 33,54 %. Der Prozentsatz DNA-synthetisierender Zellen am ersten Maximum (Std. 5 nHU) entspricht 33,7 % und am höchsten Punkt des Kurvenverlaufs (Std. 16 nHU) 68,1 % dieses Kontrollwerts. Der Endpunkt liegt damit etwa doppelt

so hoch als zur Std. 5 nHU. Die Zahlen legen den Schluß nahe, daß viele der proliferierenden Zellen ohne Verlust der Zellteilungsfähigkeit durch Ausdifferenzierung (Typ 2a bzw, 2b nach Cowdry 1942 u. 1953) sich einer erneuten Verdopplung unterziehen (Phänomen des 'recruitment' (Dethlefsen u. Riley 1973)). Eine weitere Interpretationsmöglichkeit stellt die Annahme einer anderen Zellpopulation dar, vgl. hierzu Kap. 5.3. Analyse des Synchronisationsgrades dieser Arbeit. Bereits nach einem Synthesekyklus hat sich ein bestimmter Prozentsatz (4,28 % Std. 8 nHU) aus dem synchronisierten Ablauf ausgegliedert.

Der Betrag des Kontrollwerts ist zur Std. 16 nHU noch nicht wieder erreicht, d.h. der Verlust besonders der DNA-synthetisierenden Zellen durch HU-Wirkung ist noch nicht wieder ausgeglichen. Das Fortbestehen synchronisierter Zellteilung für einen Teil der Zellen belegt der zweite Anstieg. Ob der Gipfel eines zweiten teilsynchronisierten Zellzyklus nach 16 Stunden erreicht ist oder wann dies der Fall ist, läßt sich aufgrund des begrenzten Beobachtungszeitraums nicht beurteilen. Auch lassen sich aus der hier gegebenen Versuchsanordnung keine exakten Aussagen über die Länge einzelner Zellzyklusphasen

treffen, aber doch immerhin eine grobe Abschätzung der Dauer der S-Phase versuchen: Mit erneuter Umkehr des Kurvenverlaufs zur Std. 8 nHU kann die erste Synthesephase als abgeschlossen gelten. Da sich zur Std. 8 nHU überwiegend noch die Zellen in S-Phase befinden, die später in diese eingetreten sind, ist eine kürzere Zeitspanne für t_s als 8 Stunden anzunehmen. Dies läßt sich mit den aus der Literatur bekannten Angaben vereinbaren (Belt et al. 1980, Dethlefsen u. Riley 1973, Quastler u. Sherman 1959). Da die Tendenz der Kurve zur Std. 16 nHU noch steigt, läßt sich für den zweiten Zyklus aufgrund des verlängerten Zeitraums mit zunehmenden Werten eine fortschreitende Desynchronisation vermuten.

4.1.3. Mitoseindex Duodenum (Abb. Nr. 4, Tab. S.70f.)

Parallel zum ^3H -Thymidin-Markierungsindex wurde für jeden Zeitpunkt bei den Organabschnitten Duodenum, Jejunum und Colon auch der Mitoseindex ermittelt. Er ergibt sich analog zum Markierungsindex aus dem Verhältnis der Mitosenanzahl zur Gesamtzellzahl ($\% = \frac{\text{Mitosen}}{\text{Gesamtzellzahl}} \times 100$). Als Mitosen wurden alle eindeutig einer der Mitoseteilphasen (Pro-, Ana-, Meta-, Telophase) zuzuordnenden

Zellteilungsbilder der jeweils untersuchten Zellart gewertet. Aus der Versuchsanordnung folgt zwingend, daß alle Mitosefiguren, abgesehen von allen 'falsch positiv' markierten Mitosen, unmarkiert sein müssen, da nur DNA-synthetisierende Zellen markiertes Thymidin einbauen. Eine Berechnung der verschiedenen Zellzyklusparameter (G_1 -S- G_2 -M-Phase) wie bei der Methode der markierten Mitosen (FLM) (Quastler u. Sherman 1959, Takahashi 1966) ist hier nicht möglich. Jedoch erlaubt die Zuordnung der Mitosegipfel zu den entsprechenden Markierungsmaxima deren Identifikation als eben solche im Unterschied zu bloßen Markierungsschwankungen. Die zeitliche Verschiebung des Mitosemaximums zu dem des Markierungsindex kann zu einer groben Abschätzung der prämitotischen G_2 -Phase herangezogen werden. Die phasenweise Akkumulation von mitotischen Zellen ist ein weiterer Beleg für die Synchronisation der Zellpopulation.

Von Std. -2 nHU bis einschließlich Std. 2 nHU erscheint keine Mitose. Der folgende Wert beträgt 0,070 %. Das entspricht 6 Mitosen/8915 ausgewerteter Zellen. Der Mitoseindex fällt auf 0,000 % (Std. 4 nHU) und hält sich bei 0,030 % bzw. 0,032 % an den beiden folgenden Bestimmungszeitpunkten,

bevor er zu einem signifikanten Anstieg (Std. 7 nHU: 0,16 %; Std. 8 nHU: 0,25 %) ansetzt. Die in diesen ersten Stunden auftretenden Mitosen führen in der graphischen Darstellung zu Schwankungen in dem frühen Bereich. Sie müssen als Ausdruck der nur partiellen Synchronisation gesehen werden, da sie andernfalls einen kontinuierlichen Anstieg zeigen sollten. In Absoluten Zahlen handelt es sich um eine Größenordnung von 1-3 Mitosen/8000 ausgewerteter Zellen oder, vgl. oben, in einem Fall von 6 Mitosen/8000 ausgewerteter Zellen, die aber aufgrund des gewählten kleinen Maßstabs (0 % - 1 % Skala) zu optisch imponierenden Kurvenveränderungen führen. Das Maximum ist zur Std. 9 nHU mit einem Wert von 0,75 % erreicht. Der folgende Abfall erfolgt weniger steil und schnell. Zur Std. 13 nHU (0,33 %) durchläuft die Kurve einen Tiefpunkt, steigt etwas an und hält sich während der letzten drei gewerteten Stunden um 0,48 %.

Das Mitosemaximum ist in Bezug auf das Markierungsmaximum um 3-4 Stunden versetzt. Diese Spanne liegt über den aus der Literatur bekannten Zeiten für die G_2 -Phase (Koburg u. Maurer 1962, Quastler u. Sherman 1959, Schultze et al. 1972). Im Überblick zeigt die Mitosekurve in zeitlicher Verschiebung einen der Markierungsindexkurve analogen

Verlauf: Sie beginnt am Nullpunkt, erreicht einen Gipfelwert, kehrt jedoch nicht mehr zum Ausgangspunkt zurück. Dies entspricht den theoretischen Erwartungen. Im Maximalwert (0,75 %) zur Std. 9 nHU werden 45,6 % des Kontrollwertes (1,65 %) erreicht.

4.1.4. Markierungsindex Jejunum (Abb. 5, Tab. S. 90f.)

Wie beim Duodenum ist keine Syntheseleistung während andauernder HU-Infusion feststellbar. Sie beginnt aber unmittelbar nach Ende der HU-Behandlung in einem Versuchstier (Markierungsindex Std. 0 nHU: 0,53 %). Ein entsprechender Wert 0,59 % findet sich in der nächsten Stunde, der sich ebenfalls aus den zwei Indices der ausgewerteten Zellen eines einzigen Tieres errechnet. Zur Std. 2 nHU ergeben sich vier Indices, die zwei Tieren zuzuordnen sind, dennoch zeigt der Markierungsindex erstmals einen signifikanten Zuwachs auf 4,38 %, der auf eine überdurchschnittlich angewachsene DNA-Synthesefähigkeit im Jejunum dieser beiden Tiere beruht. Ab Std. 3 nHU weisen alle Präparate markierte Zellen auf. Abgesehen von geringfügigen Abweichungen behält die Kurve nun ihre steigende Tendenz bis zu einem ersten Maximum bei, das bei einem Wert von 22,15 % in der Std. 7 nHU erreicht ist. Die mittlere Zuwachsrate

der markierten Zellen beträgt dabei von Std. 1-7 nHU 3,59 %/Stunde. Zur Std. 8 nHU hin fällt der Markierungsindex um 7,73 % auf 14,42 %, also ungefähr um den doppelten Betrag der Zunahme. Der Markierungsindex schwankt in den folgenden Stunden um diesen Wert. Vom Zeitpunkt Std. 12 nHU (11,33 %) an nimmt die Markierung wieder zu, im unmittelbar anschließenden Ein-Stundenintervall auf 20,29 %, eine relativ große Zunahmerate, in den weiteren drei Stunden mit geringer Steigerung auf 24,74 % zur Std. 16 nHU. Der Zuwachs der letzten vier Stunden entspricht mit 3,28 %/Stunde etwa dem des Anstiegs zum ersten Maximum. Der letzte Wert (Std. 16 nHU) liegt dabei mit 2,59 % über dem des ersten Gipfels und stellt den höchsten Wert des gesamten Kurvenverlaufs dar.

In der Kontrollgruppe befinden sich 34,01 % der Zellen in der DNA-Synthesephase. Der Markierungsindex von 22,15 % des ersten Maximums zur Std. 7 nHU entspricht 65,12 % der Kontrolle. Auch im letzten und höchsten Punkt der Kurve beträgt der Markierungsindex von 24,74 % nur 72,74 % des Kontrollwertes. Der Differenzbetrag ist jedoch kleiner als beim Duodenum. Auch hier ist die durch IIU hervorgerufene Störung der normalen DNA-Synthese nach Passage eines Zellteilungszyklus noch

nicht wieder überwunden.

4.1.5. Mitoseindex Jejunum (Abb. 6, Tab. S. 90f)

Unter HU-Infusion konnte keine Mitosefigur gezählt werden. Es fand sich eine Mitose auf 8221 ausgewertete Zellen unmittelbar nach Ende der HU-Dauergabe, das entspricht 0,012 % (Std. 0 nHU). Bis zur Std. 3 nHU konnte wiederum keine Mitose gefunden werden. Dagegen verzeichnet Std. 4 nHU einen Index von 0,054 % und Std. 5 nHU von 0,036 %. Std. 7 nHU weist 0,019 %, entsprechend 2 Mitosen/1061 ausgewerteter Zellen, aus, der vorausgehende Bestimmungszeitpunkt 0,000 %. Ab Std. 7 nHU setzt die Mitoseaktivität verstärkt ein. Innerhalb drei Stunden gelangt sie auf ein die Zeitpunkte 10 nHU und 11 nHU umfassendes, einstündiges Plateau (0,75 % bzw. 0,75 %), nimmt stark bis zur folgenden Std. 12 nHU auf 0,29 % ab, beginnt sofort wieder die letzten vier Stunden zu steigen, jedoch etwas flacher als im Anstieg zum Plateau. Der Mitoseindex der letzten Stunde des Beobachtungszeitraums beträgt 0,60 %. In den Kontrollpräparaten ergab die Auswertung einen Mitoseindex von 1,95 %. Das Maximum von 0,75 % zur Std. 10 nHU entspricht 38,7 % der Kontrolle.

Auch hier bestätigt der Kurvenverlauf das DNA-Synthesemaximum. Die zeitliche Verschiebung der beiden Gipfel beträgt ca. 3 Stunden. Da sich die Prozentangaben des Mitoseindex nur auf eine kleine Anzahl von Mitosen beziehen, erscheint es nicht als gerechtfertigt, aus dem relativ steilen Anstieg oder Abfall indirekt auf einen hohen Synchronisationsgrad zu schließen.

4.1.6. Markierungsindex Colon (Abb. 7, Tab. S.110 f.)

DNA-synthetisierende Zellen lassen sich erstmals zur Std. 1 nHU in zwei Tieren registrieren (1,80 %). Ein weiteres Tier beginnt in der nächsten Stunde (3,43 %). Alle bis zu diesem Zeitpunkt erfaßten Indices entsprechen einem Anteil markierter Zellen (mZ) von maximal 72 mZ/1000 ausgewerteter Zellen (aZ). Zum Zeitpunkt Std. 3 nHU synthetisieren die Zellen aller vier Tiere (17,94 %) DNA. Der niedrigste Betrag markierter Zellen eines Einzelindex beläuft sich auf 172 mZ/1000 aZ. Im Kurvenverlauf schlägt sich dieses Verhalten in einer ausgeprägten Steigerungszunahme nieder. Zur nächsten Stunde hin bildet sich eine Stufe aus. Die Zunahme beträgt nur 1,76 %, dann folgt ein ähnlich hoher Anstieg wie zwei Stunden vorher. Das Maximum ist zur Std. 5 nHU mit 32,48 %

erreicht und hält auch noch zur Std. 6 nHU (32,04 %) an. Ein ähnlich schneller, zweistündiger Abfall schließt sich bis einschließlich Std. 8 nHU (19,92 %) an. Seine Neigung ist jedoch geringfügig flacher als der Anstieg - ein gegenüber Duodenum und Jejunum verändertes Verhalten: es zeigt sich hier im Anstieg ein größeres Ausmaß an Synchronisation als im Abfall. Zwar verringert sich der Markierungsindex zur Std. 9 nHU noch einmal um 0,96 %, jedoch liegt diese Verminderung nicht mehr in der Tendenz des absteigenden Kurventeils, sondern fügt sich in die Reihe der nächsten sechs folgenden Werte bis Std. 15 nHU, die die Kurve annähernd parallel zur Abszisse fortsetzen. Im letzten Stundenintervall kündigt sich wieder eine Zunahme vergleichbar der zwischen Std. 2 - 5 nHU an: der zweite Eintritt der synchronisierten Zellen in die S-Phase. Zum letzten Beobachtungszeitpunkt befinden sich 28,95 % in der Synthesephase. Die Höhe des ersten Gipfels (Std. 5 nHU: 32,48 %) ist damit nicht wieder überschritten. Das Colon zeigt hier ein anderes Verhalten als Duodenum und Jejunum. Der Maximalwert des Markierungsindex des Colon zur Std. 5 nHU erreicht fast den Markierungsindex der Kontrollgruppe von 33,76 %.

4.1.7. Mitoseindex Colon (Abb. Nr. 8, Tab. S. 110 f.)

Es wiederholt sich im Wesentlichen der Ablauf der beiden vorher besprochenen Organabschnitte Duodenum und Jejunum: Keine Mitosetätigkeit unter HU-Infusion und in den beiden anschließenden Stunden. Vereinzelt mitotische Zellen zur Std. 3 nHU, in Std. 4 nHU keine Mitosen. Von hier ab innerhalb drei Stunden ein relativ steiler Anstieg auf den Höchstwert 1,65 % in Std. 7 nHU mit daran anschließendem Abfall, für eine Stunde unterbrochen zum Zeitpunkt Std. 10 nHU, auf 0,65 % zur Std. 12 nHU. Von den verbleibenden vier Mitosewerten zeigen die beiden ersten steigende, die beiden letzten wieder abfallende Tendenz. In Korrelation zum Verlauf der Markierungsindexkurve gesetzt, ergibt sich als wichtige Feststellung ein Heranrücken des Mitosemaximums an das der DNA-Synthese. Es besteht eine gegenüber Duodenum und Jejunum verkürzte Zeitdifferenz von nur ca. zwei Stunden. Weiterhin liegt die Vermutung nahe, daß der Anstieg des Mitoseindexverlaufs mit Std. 9 nHU beendet ist und die folgenden Werte Schwankungen, wenn auch große, um einen ab Std. 9 nHU in etwa konstanten Mitoseindex darstellen, da auch die DNA-Syntheseaktivität auf weitgehend gleicher Höhe weiterläuft. Der Mitoseindex der

Kontrollgruppe (2,02 %) wird auch im Maximum (1,65 % entspricht 81,7 % der Kontrolle) nicht ganz erreicht.

4.1.8. Markierungsindex Zunge (Abb. Nr. 9, Tab. S. 130f.)

Von Std. -2 bis 0 nHU findet sich mit jeweils einer markierten Zelle pro ausgewertetem Zeitpunkt der Nachweis einer geringen DNA-Synthese. Dies stellt keinen Widerspruch dar, da wie bereits erwähnt eine vollständige Unterdrückung der DNA-Synthese auch bei maximal wirksamer HU-Dosierung nicht zu erwarten ist (Rajewsky et al. 1971). In den beiden folgenden Stunden setzt eine leichte Steigerung der Synthesetätigkeit ein (Std. 1 nHU: 0,15 %; Std. 2 nHU: 6,12 %). Die größte Steigerung erfolgt zur Std. 3 nHU um 26,20 % auf 32,32 %. Der Zuwachs der beiden folgenden Stunden bis zum Maximalwert von 37,97 % (Std. 5 nHU) ist dagegen wieder vergleichsweise gering. Der Markierungsindex der Kontrolltiere wird dabei um das Doppelte übertroffen. Folglich besitzt HU für die basalen Zellen des Zungenepithels der Ratte eine vergleichsweise hohe akkumulatorische Potenz. Der Sachverhalt läßt sich auch in anderen Worten beschreiben: Es besteht eine geringe Empfindlichkeit dieser Zellen für die toxischen Komponenten der HU-Wirkung

im Vergleich zu den vorher untersuchten Organabschnitten. Gleichwohl ist eine toxische Wirkung vorhanden, da die theoretisch maximal mögliche Anhäufung von Zellen an der G_1/S -Phasengrenze bzw. ihr Entlassen in die S-Phase nicht voll ausgeschöpft ist. Gemessen am Markierungsindex von 18,50 % der Kontrollgruppe (dieser Wert entspricht etwa 1/5 der teilungsfähigen Zellen) ließe sich eine maximale DNA-Synthese bei ca. 80 % der Zellen des Stratum basale erwarten, wenn nur die in S-Phase befindlichen Zellen bei HU-Einwirkung abgetötet werden, alle anderen jedoch mit der DNA-Verdopplung beginnen würden.

Der abfallende Schenkel der Kurve zieht sich, abgesehen von einer isolierten, für eine Stunde anhaltenden Steigung zur Std. 7 nHU unterbrochen, kontinuierlich und im Vergleich zum Anstieg flach bis zur Std. 12 nHU (10, 49 %) hin. Er setzt sich mit einer erneuten mäßigen Steigung in den nächsten drei Stunden fort und deutet in der letzten Stunde wieder eine starke Zunahme an (Std. 16 nHU: 32,95 %). Dabei liegen die Werte von Std. 10 - 14 nHU einschließlich unterhalb der Werte der Kontrollgruppe. Es besteht also auch für das Zungenepithel hochgradige Synchronisation am Beginn der S-Phase, wenig Gleichzeitigkeit an deren Ende.

5. DISKUSSION

Im Überblick der Einzeldarstellungen zeigt sich ein ähnliches Verhalten aller untersuchten Organabschnitte:

- Wiederaufnahme der DNA-Synthese nach 25-stündiger Blockierung ist in allen Organen möglich.
- die Zellpopulationen lassen sich teilsynchronisieren.
- die Veränderung des physiologischen Regenerationsverhaltens ist in keinem Organ bereits nach einem Zellzyklus wieder ausgeglichen.

Es gilt jetzt die einzelnen Abschnitte des Beobachtungszeitraums genauer zu analysieren und miteinander zu vergleichen, um die neben den Gemeinsamkeiten bestehenden Unterschiede herauszuarbeiten..

5.1. _Wiederbeginn der DNA-Synthese nach HU-Dauerinfusion über 25 Stunden

Veröffentlichungen, in denen mit HU-Einzeldosen gearbeitet wurde (Dethlefsen u. Riley 1973, Dethlefsen et al. 1975, Philips et al. 1967) berichten von einer 5 - 6-stündigen, nahezu vollständigen DNA-Synthesehemmung nach Injektion des HU.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen bereits unmittelbar nach Beendigung der HU-Dauerinfusion einen, wenn auch nur leicht erhöhten Prozentsatz markierter Zellen. Auch Iseler (1977) fand bei der Untersuchung von Ratten-Hepatocyten nach HU-Dauerbehandlung eine entsprechende frühe Syntheseaktivität. Die von Rajewsky (1971) bereits oben erwähnte , nachgewiesene Restaktivität der DNA-Synthese auch unter optimaler Hemmung kann hierfür eine Erklärung sein, obwohl ein deutlicher Unterschied zwischen den Ergebnissen der während zwei Stunden vor und zwei Stunden nach Ende der HU-Infusion verabreichten ^3H -Thymidindosen besteht. Ursächlich könnte ein DNA-Reparaturmechanismus sein, dessen Fortbestehen unter HU-Einwirkung von Brandt et al. (1972) bei HeLa-Zellen bestätigt wurde. Andere Autoren (Coyle u. Strauss 1970) jedoch weisen bei der Untersuchung von HEP-2-Zellen, die ebenfalls einer HU-Dauerbehandlung unterworfen worden waren, auf eine Restsynthese hin, deren Resultat eine 'small DNA' darstellte, die nach Auswaschen von HU in die normale DNA integriert wurde. Explizit schließen Walters et al. (1976) aus, daß diese DNA-Bruchstücke aus Repair-, cytoplasmatischer oder mitochondrialer DNA stammen.

Dieselben Autoren (Walters et al. 1976) be-

richten, daß diese Bruchstücke innerhalb drei Stunden nach Entfernen des HU in normaler DNA zu finden seien. Dies bekräftigt die oben geäußerte Vermutung, die in den ersten Stunden gebildete DNA könnte aus diesen Bruchstücken der unter HU fortbestehenden Restsynthese bei nachlassender, aber noch hemmwirksamer HU-Serumkonzentration, bereits früher vor dem eigentlichen Wiedereinsetzen der DNA-Synthese entstanden sein.

5.2. Unterschreiten der hemmwirksamen HU-Konzentration

Betrachtet man die Entwicklung der Mittelwerte des Markierungsindex, so bemerkt man mit Ausnahme des Jejunums eine größere Zunahme des Index jeweils ab Std. 2 nHU. Analysiert man jedoch die Entwicklung der Einzelindices und verläßt die Prozentangaben zugunsten der absoluten Zahlenangabe markierter Zellen, so wird auch für das Jejunum der quantitative Einschnitt an dieser Stelle offenbar. Indirekt läßt sich dadurch auch die Hypothese einer qualitativ andersgearteten frühen DNA-Synthese im Sinne des zuletzt diskutierten Punkts 5.1. stützen. Es ergeben sich die in Abb. Nr. 10, S.68 dargestellten Verteilungsbilder der markierten Zellen in Abhängigkeit

von der Größe des Zeitintervalls HU-Blockende - ^3H -Thymidingabe. Die Einzelwerte repräsentieren die Anzahl markierter Zellen (mZ) pro 1000 ausgewerteter Zellen (aZ). Diese Einzelwerte wurden, ihrem entsprechenden 10-er-Intervall zugeordnet, in eine Skala eingetragen, die im Bereich bis 400 mZ/1000 aZ in 10-er-Schritte unterteilt ist (relevanter Bereich), darüber in 20-er-Schritte. Für die Betrachtung der frühen DNA-Synthese ist der Zeitabschnitt der ersten sechs Stunden nach Beendigung des HU-Blocks ausreichend. Dies Verfahren entzerzt durch einen veränderten Maßstab die Prozentangaben des Markierungsindex und verdeutlicht somit die zwischen Std. 2 und 3 nHU befindliche 'Markierungslücke' (Abb. Nr. 10, S.68: durch --- gekennzeichnete freier Bereich).

Beim Duodenum liegen alle Einzelergebnisse einschließlich Std. 2 nHU unter 15 mZ/1000 aZ. Eine Ausnahme bilden zwei Werte, die zu einem Tier gehören und weitaus mehr mit Silberkörnern gekennzeichnete Zellen (z.B. 120 mZ/1000 aZ) zeigen, was in der Höhe den Resultaten der Tiere der nachfolgenden Zeitpunkte entspricht. Das Tier reagiert also gleichförmig, jedoch individuell bedingt eine Stunde früher als die anderen. Ab Std. 3 nHU liegen alle Einzelwerte über 35 mZ/1000 aZ.

Beim Jejunum stellen die Grenze 26 mZ/1000 aZ bis zur Std. 2 nHU dar, ab Std. 3 nHU dagegen finden sich keine Werte mehr, die weniger als 69 mZ/1000 aZ aufweisen. Auch hier reagieren bereits zwei Tiere zur Std. 2 nHU mit Werten, die in der Größenordnung späterer Zeitpunkte liegen.

Das Colon bietet bis einschließlich Std. 2 nHU markierte Zellen unter 72 mZ/1000 aZ, ab Std. 3 nHU über 160 mZ/1000 aZ.

Bei der Zunge liegt die Schwelle bei Markierungswerten bis zu 50 mZ/1000 aZ zur Std 2 nHU und über 230 mZ/1000 aZ ab Std. 3 nHU. Ein einziger Wert eines 2-Std.-Tieres ist erhöht, er bewegt sich im Bereich 160 mZ/1000 aZ.

Bei allen Tieren findet sich eine 'Markierungslücke' von organspezifischer Lage und Größe. Unterhalb davon bewegt sich der Anteil markierter Zellen bis zur Std. 2 nHU mit nur geringer Steigerung, oberhalb davon ab Std. 3 nHU mit großem Zuwachs. Abgesehen von diesen Aussparungen finden sich alle anderen Werte bis zum jeweiligen Maximum relativ gleichmäßig auf alle 10-er-Schritte verteilt. Dieses Verhalten wird als Reaktion auf das Absinken der

HU-Konzentration auf Werte unterhalb der Synthesehemmgrenze zurückgeführt. Dadurch läßt sich auch die "verfrühte" DNA-Synthese bei einzelnen Tieren durch individuell gesteigerte Elimination von HU und damit früher erniedrigtem HU-Spiegel oder geringer Empfindlichkeit für HU-Wirkung und damit Eintritt in die S-Phase zu einem früheren Zeitpunkt verstehen. Legt man die Eliminationskinetik für HU, die bei gleicher Dosierung, Dauer und mit Tieren desselben Stamms erarbeitet wurde (Rabes et al. 1977) zugrunde, so ergibt sich, daß sich die HU-Serumkonzentration zwei Stunden nach Ende der HU-Infusion bereits in einer Größenordnung von 10^{-4} molar bewegt. Dies ist der Kritische Bereich ($< 10^{-3}$ molar) unterhalb dessen eine ausreichende DNA-Synthesehemmwirkung nicht mehr gegeben ist (Kim et al. 1967, Pfeiffer u. Tolmach 1967, Sinclair 1965, Young u. Hodas 1964). Die Markierungslücke tritt in der Reihenfolge Duodenum, Jejunum, Colon und Zunge in ihrer Deutlichkeit zunehmend hervor. Eine Erklärung hierfür ist in der höheren Empfindlichkeit in umgekehrter, obiger Abfolge hinsichtlich der toxischen HU-Wirkung zu suchen.

5.3. Analyse des Synchronisationsgrades

Der Influx der Zellen in die DNA-Synthesephase bietet einen weiteren, aussagekräftigen Parameter zur Beurteilung der Reaktion der verschiedenen Zellpopulationen auf die HU-Dauerinfusion. Der Influx läßt sich als prozentualer Zuwachs markierter Zellen pro Stunde erfassen. Er drückt als Zahlenwert die graphische Steigung der Kurve aus. Je größer die Steigung bzw. der Abfall, desto größer der Grad an Synchronisation. Im Idealfall entsteht ein rechteckiges Kurvenbild: . Für einige Zeit nach Beendigung der HU-Dauerinfusion findet keine DNA-Synthese statt, da der noch vorhandene HU-Plasmaspiegel eine fortbestehende Blockade gewährleistet. Wird die Hemmkonzentration unterschritten, treten alle noch zur DNA-Synthese fähigen Zellen in einem von der HU-Toxizität abhängenden Prozentsatz (Höhe der Kurve) in die Synthesephase ein (senkrechter Anstieg) und beenden diese wiederum gemeinsam nach einigen Stunden (rechtwinkliger Abfall).

Gemeinsam findet sich bei Duodenum, Jejunum und Colon das Ende der teilsynchronisierten Synthesephase eines Teils der Zellen (vgl. unten) etwa zur Std. 8 nHU. Innerhalb von etwa zwei Stunden wird es erreicht.

Der Ausklang der S-Phase der Epithelzellen verläuft also in den drei Organabschnitten relativ einheitlich und gut begrenzt. Er repräsentiert ein beträchtliches Maß an Synchronisation. Nicht so der Beginn der Synthesephase. Wie in Punkt 5.2. dargelegt, beginnt der eigentliche Wiedereintritt in die S-Phase nach Absinken des HU-Spiegels unter eine hemmwirksame Konzentration. Dies ist ab Std. 3 nHU der Fall. Deshalb werden die im Folgenden betrachteten Zuwachsraten über den Abschnitt von diesem Zeitpunkt bis zum Höchstwert bzw. vom Maximum bis zum S-Phasenende (Std. 8 nHU) gemittelt. Es errechnen sich für das Duodenum 3,25 %/Stunde, für das Jejunum 3,55 %/Stunde, für das Colon 9,75 %/Stunde und für die Zunge 10,61 %/Stunde. Colon und Zunge entsprechen mit den höchsten Influxraten am ehesten den theoretischen Erwartungen. Das Duodenum läßt den geringsten Grad an Synchronisation erkennen, der Unterschied zum Jejunum ist jedoch nicht sehr groß. Der Influx bei den zuletzt genannten Organen verläuft protrahiert. Ein etwa verlangsamtes Absinken der HU-Konzentration kann dafür nicht verantwortlich gemacht werden, wie Colon und Zunge beweisen. Mit zunehmendem zeitlichen Abstand vom HU-Infusionsende überwinden immer mehr Zellen die HU-Wirkung. Nicht alle Zellen sind also in der Lage, sofort bei

Unterschreiten der Hemmkonzentration mit der Synthese zu beginnen. Sie müssen in höherem Maß empfänglich für die Schädigung durch HU sein, die unabhängig vom Abtöten der in S-Phase befindlichen Zellen auftritt. Diese Empfindlichkeit nimmt der Größe der Influxrate zufolge von Duodenum über Jejunum und Colon zur Zunge hin ab.

Diese verschiedenartige Zellkinetik bei Eintritt und Verlassen der DNA-Synthesephase erscheint auf den ersten Blick widersprüchlich: Ein relativ gut Synchronisiertes S-Phasenende verlangt theoretisch einen ebenso einheitlichen Influx am Beginn desselben. Umgekehrt fordert für Colon und Zunge der gleichzeitige Übertritt in die DNA-Synthese eine gleichermaßen synchrone Schlußphase. Im letzten Fall erweist sich folgende Vorstellung als hilfreich:

- auch bei gleichzeitigem Start existieren durch zellindividuelle Reaktionen bedingte, unterschiedlich lang andauernde S-Phasen, die Desynchronisation nimmt zu, der Abfall verläuft flacher. Eine gewissen Spielbreite der S-Phasenlänge trifft auch für unbehandelte Zellen zu.
- im Vergleich zur Masse der nahezu gleichzeitig mit der DNA-Replikation beginnenden Zellen ist eine kleine Anzahl verspätet startender Zellen

für die Steilheit des Kurvenanstiegs von relativ geringem Einfluß, gewinnt aber im Rahmen der vorstehend genannten Erklärung bei einem kleineren Gesamtprozentsatz in S-Phase befindlicher Zellen für eine verlängerte Auslaufphase Bedeutung.

Bei Duodenum und Jejunum ergeben sich umgekehrte Verhältnisse. Hier scheint jeweils der Abschluß der S-Phase geringfügig höher synchronisiert als der Beginn. Der Unterschied beim Duodenum ist weniger ausgeprägt (der Anstieg des ^3H -Thymidin-Markierungsindex: 3,25 %/Stunde; Abfall: 4,19 %/Stunde) als beim Jejunum (MI-Anstieg: 3,55 %/Stunde; Abfall: 7,73 %/Std.). Die vorliegenden asymmetrischen Kurvenformen kann man als einen Summationseffekt verstehen. Der Gipfel bildet sich aus Zellen, die sich nach frühem Eintritt in die S-Phase gerade noch in dieser befinden und den später eingetretenen Zellen, die eben erst mit der DNA-Synthese begonnen haben. Die zwischen Std. 2 - 3 nHU (und vorher) begonnenen S-Phasen enden zwischen Std. 6 - 8 nHU (Abfall). Dies entspräche einer S-Phasenlänge von ca. 5 - 6 Stunden (maximal 8 Stunden) Dauer. Die Zellen mit S-Phasenbeginn zwischen Std. 5 - 6 nHU (Duodenum) bzw. Std. 6 - 7 nHU (Jejunum) sind für das bestehende Minimum verantwortlich zu

machen. Ihr Ende überlagert sich bereits wieder mit dem zweiten Eintritt der frühen Zellen in die S-Phase. Addiert man überschlagsweise die geschätzten Zeiten von S-Phase (5 - 6 Stunden), G_2+M -Phase (ca. 2 Stunden) (Koburg u. Maurer 1962, Quastler u. Sherman 1959) und eine sehr kurze G_1 -Phase (Dethlefsen u. Riley 1973), so gelangt man mit guter Genauigkeit in den Bereich des entsprechenden zweiten Kurvenanstiegs zur Std. 13 nHU bei Duodenum und Jejunum und durch den flachen Abfall bei Colon und Zunge entsprechend weiter nach hinten verlagert zur Std. 16 nHU.

Eine zweite Erklärungsmöglichkeit für Duodenum und Jejunum wäre durch die Annahme einer größeren Varianz der S-Phasendauer bei gleichartigen Zellen gegeben. Eine bestimmte Zahl könnte aufgrund aufgetretener Schädigungen die begonnene S-Phase vorzeitig beenden und dadurch den im Vergleich zum Anstieg beschleunigten Abfall bewirken. Auf die Tatsache, daß der Einbau tritiierten Thymidins in die DNA nach Ende des HU-Blocks keinen Beweis für die Unversehrtheit der Zellen darstellt, hat bereits Sinclair (1967) hingewiesen.

Es zeigt sich eine Abnahme der Störung des Influxverhaltens in der Rangfolge Duodenum, Jejunum,

Colon und Zunge.

Bei Duodenum, Jejunum und Colon besteht jeweils nach dem eigentlichen Beginn der DNA-Synthesephase in Std. 3 nHU eine Unregelmäßigkeit im Anstiegsverhalten. Es existiert eine Stufenbildung (Duo. Std. 3-4 nHU, Jeju. Std. 5-6 nHU, Colon Std. 3-4 nHU), nicht so bei der Zunge. Der kurzzeitige flache Kurvenverlauf ist in allen Fällen von einer breiteren Streuung der Einzelindices begleitet. Letztlich kann durch diese Arbeit die Ursache dieser Schwankungen nicht geklärt werden, dazu müßten andere Parameter, die nicht im hier gewählten Versuchsaufbau berücksichtigt sind, bestimmt werden. Es bleibt nur die Möglichkeit, verschiedene Erklärungsversuche zu erörtern.

Sicher können solche Unregelmäßigkeiten durch technische, bei der Versuchsdurchführung unbemerkt gebliebene Umstände bedingt sein. Auch können bei der relativ geringen Anzahl der Versuchstiere statistisch begründete Schwankungen vorkommen, z.B. hervorgerufen durch individuell unterschiedliche Reaktionen auf HU (vgl. 5.2. schnelleres Eintreten in die S-Phase einzelner Tiere). Doch müssen auch andere Erklärungsversuche in Betracht gezogen werden, insbesondere da vergleichbare Erscheinungen in drei

Organen an vergleichbaren Positionen auftreten.

Eine naheliegende Lösung bietet die Annahme zweier Zellpopulationen mit unterschiedlicher Sensibilität für HU an, deren eine später mit der DNA-Synthese beginnt und dadurch einen zweiten starken Anstieg innerhalb des ersten Peaks veranlaßt. Eine Analyse der Verteilung der Einzelindices analog der für den Bereich Std. 2-3 nHU durchgeführten bestätigt eine solche Annahme nicht. Trotzdem wird in einer Arbeit das Vorkommen einer Reservezellpopulation angenommen (Fry et al. 1963), von anderen allerdings ausgeschlossen (Eder 1966, Löbbecke et al. 1966) und wiederum nur für das Colon eine kleine Gruppe von Kryptenepithelzellen mit langsamerem Generationszyklus vermutet (Lipkin u. Quastler 1962).

Coyle u. Strauss (1970) fanden, daß in HEP-2-Zellkulturen auch unter HU die Synthese von DNA-Fragmenten ('small DNA') weiterläuft. Diese 'small DNA' formiert sich nach Entfernen des HU schnell zu größerer DNA. Walker et al. (1977) diskutieren die Existenz zweier verschiedener DNA-Polymerasen, deren eine die kurzen DNA-Ketten (entsprechen der von Coyle u. Strauss sog. 'small DNA') produziert, die andere dagegen für den Zusammenbau dieser Untereinheiten verantwortlich

zu sein scheint. Diese Existenz einer Rest-DNA-Synthese unter HU eröffnet eine weitere Erklärungsmöglichkeit: Die bereits unter HU präformierten DNA-Fragmente tragen zur initialen DNA-Synthese bei. Sie können innerhalb von drei Stunden nach Auswaschen des HU-Mediums in der DNA von chinesischen Hamsterzellkulturen gefunden werden (Walker et al. 1977). Nach ihrem Verbrauch geht die DNA-Syntheserate kurzfristig zurück. Der erneute Anstieg könnte als der eigentliche Wiederbeginn der DNA-Synthese aus nicht präformierten Fragmenten aufzufassen sein.

5.4. Höhe der ^3H -Thymidin-Markierungsindices

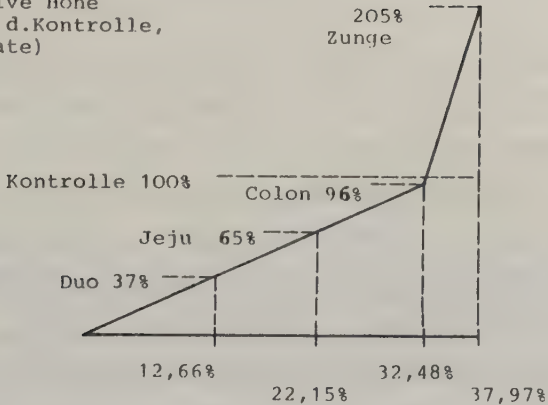
Ein wichtiges und auch augenfälliges Ergebnis stellt die unterschiedliche Höhe des ersten Synthesemaximums dar, um so mehr als, abgesehen vom Zungenepithel (18,54 %), bei den übrigen drei Abschnitten des Verdauungstrakts die Kontrollwerte sehr gut übereinstimmen (Duodenum: 33,54 %, Jejunum: 34,01 %, Colon: 33,76 %).

Da der HU-Block mindestens einen Zellzyklus lang (Zunge) oder länger (Duodenum, Jejunum, Colon) anhält, treten alle noch zur DNA-Synthese fähigen Zellen in die DNA-Synthesephase ein: innerhalb von 24 Stunden

haben alle Dünndarmkryptenzellen ihnen angebotenes radioaktiv markiertes Thymidin eingebaut (Löbbbecke et al. 1966). Zusätzlich spricht dieser Befund auch gegen die Existenz einer Reservezellpopulation. Treten weniger Zellen als dem Markierungsindex der Kontrollgruppe entspricht in die DNA-Synthesephase ein, so ist dies auf toxische HU-Wirkung zurückzuführen. Ein derartiger toxischer Effekt von HU wäre von der zelltötenden Wirkweise auf S-Phase-Zellen zu unterscheiden.

Der Prozentsatz markierter Zellen beim ersten Maximum stiegt vom Duodenum (12,66 %) über Jejunum (22,15 %), Colon (32,48 %) zur Zunge (37,97 %) hin an. Auch hieraus ergibt sich, daß der schädigende Effekt von HU für die Duodenalschleimhaut am größten ist und sich im Verdauungstrakt nach distal zu verringert. Eine Sonderstellung nimmt das Zungenepithel ein. Es läßt sich jedoch nicht unmittelbar vergleichen, da die Zungenschleimhaut gemäß ihrer unterschiedlichen Funktion anders aufgebaut ist.

Abb.11:
Synopsis der Markierungsmaxima
absolute Höhe (in %, Abszisse)
relative Höhe
(in % d.Kontrolle,
Ordinate)



Da der Markierungsindex der Kontrollgruppen bei Duodenum, Jejunum und Colon näherungsweise identisch ist, kann die S-phasen-spezifische Abtötung von Kryptenzellen für die unterschiedlich hohen Synthesemaxima nicht verantwortlich gemacht werden, wohl aber bei der Zunge, zumindest zu einem Teil, zum Zustandekommen des Overshoot über den Kontrollwert beitragen (vgl. hierzu 4.1.8. Einzeldarstellung des Markierungsindex der Zunge). Eine mögliche Erklärung könnte in den Ergebnissen von Arbeiten zu finden sein, die von zunehmenden zelltoxischen Phänomenen berichten, wenn Zellen einen Zeitraum, der sich der Dauer eines Generationszyklus nähert oder diesen

überschreitet, einer DNA-hemmenden Dosis ausgesetzt wurden (Coyle u. Strauss 1970, Kim et al. 1967, Pfeiffer u. Tolmach 1967). Besitzen nun die Duodenalkryptenzellen eine kürzere Generationszeit als die Jejunumzellen und diese wiederum als die Colonzellen und schließlich die des Plattenepithels der Zunge, so ließen sich die Sensibilitätsunterschiede erklären. Dafür lassen sich in der Literatur Hinweise finden: 11 Stunden wurden für den Generationszyklus des Duodenum (Leshner et al. 1961), für das Jejunum ca. 18 Stunden (Pilgrim et al. 1965, Quastler u. Sherman 1959) bzw. 14-15 Stunden (Koburg u. Maurer 1962), für das Colon 24 Stunden, ebenso 24 Stunden für das Zungenplattenepithel (Oehlert u. Büchner 1961). Die Zeitdifferenzen werden von anderen Autoren allerdings auch als weniger differierend angegeben (Koburg u. Maurer 1962, Pilgrim u. Maurer 1965, Quastler u. Sherman 1959).

Als wichtig ist festzuhalten, daß ein kumulativer Effekt über die Werte der Kontrollgruppen hinaus für Duodenum, Jejunum und Colon nicht zu erzielen ist. Eine Teilsynchronisation findet jedoch statt. Die toxische HU-Sensibilität ist beim Duodenum unter Dauerinfusion am größten, sie nimmt über Jejunum,

Colon zur Zunge hin ab.

5.5. Kurvenverhalten nach Passage der ersten S-Phase

Nach Passage der ersten S-Phase nach Ende des HU-Blocks kehrt der ^3H -Thymin-Markierungsindex in keinem Fall wieder zum Ausgangswert um 0 % zurück. Die Entstehung der nunmehr leicht erhöhte Indexwerte aufweisenden Minima wird in 3.5. als Prozentsatz der später in die S-Phase eingetretenen Zellen und, vor allem für Colon und Zunge, durch eine sich damit überlagernde Zunahme der Desynchronisation durch zellindividuell unterschiedlich langes Verharren in der S-Phase erklärt.

Beim Duodenum wiederholt sich von Std. 8 nHU an in groben Zügen der Verlauf des ersten Anstiegs in einer zeitlichen Verschiebung von 8-11 Stunden. Die Zunahme der zeitlichen Verschiebung (Dehnung) mit sich vergrößerndem Abstand vom Zeitpunkt 0 nHU erklärt sich durch die fortschreitende Desynchronisation. Der erneute Beginn der S-Phase zur Std 9 nHU kann nur verstanden werden, wenn die G_1 -Phase sehr klein wird oder ausfällt. Angenommen, es träten erneut alle Zellen in die S-Phase ein, müßte der Markierungsindex unter Berücksichtigung des o.g.

gedehnten Verlaufs den doppelten Betrag korrespondierender Zeitpunkte ergeben. Die entsprechenden Werte liegen beim Duodenum für den gesamten zweiten Kurventeil knapp darunter - es ist also wahrscheinlich, daß sich nicht alle Zellen der zweiten Generation erneut teilen, sondern sich einige schon einer Ausdifferenzierung unterziehen (postmitotische Zellen nach Cowdry (1942 u. 1953)).

Für Jejunum und Colon, erst recht für die Zunge, kann man eine vergleichbare 'Parallelität' nicht mehr feststellen. Die Kurve des Jejunum zeigt nach Std. 8 nHU einen unruhigen Verlauf; die Markierungsindices schwanken um den Wert der Std. 8 nHU (14,42 %), bis sie zur Std. 13 nHU wieder zu steigen beginnen. Entweder ist die G_1 -Phase einer größeren Anzahl Zellen bereits länger geworden oder es differenzieren mehr Zellen unter Verlust der Teilungsfähigkeit aus.

Beim Colon stellt sich der Verlauf ab Std 8 nHU relativ ausgeglichen dar. Die erneute Synthesenahme wird noch weiter hinausgeschoben (Std. 16 nHU).

Die Auswanderungsgeschwindigkeit der Zellen auf auf die Zotten bzw. zum Kryptenrand beim Colon nimmt von Duodenum über Jejunum zum Colon hin ab (vgl.

Eder 1966). Dies und die gleichsinnig abnehmende zellschädigende HU-Wirkung (vgl. 5.4.) führen zu Ausfällen für das Funktionsepithel der Darmschleimhaut, die sich wiederum in derselben Abstufung ausprägen. Läsionen und Zottenatrophie sind innerhalb von 24-48 Stunden für das Duodenum und abgeschwächt für das Jejunum nachweisbar, kommen beim Colon innerhalb einer solchen Zeitspanne aber kaum zum Tragen (Eder 1966). Der Bedarf und damit der Stimulus für Zellnachschiebung ist folglich für das Duodenum am größten. Dieser Sachverhalt könnte in Korrelation zum zuletzt besprochenen Synthesewiedereintritt der zweiten Phase gesehen werden.

Da bei der Zunge das erste Maximum den Betrag der Kontrollgruppe um etwa das Doppelte überschreitet, ist die Anzahl der Zellen, die später mit der Synthesephase beginnen können, zwangsläufig geringer und damit die Differenz Maximum - Minimum größer. Setzt man den Markierungsindex zum Zeitpunkt des Minimums ins Verhältnis zu dem der Kontrollgruppe, so erhält man ein Maß für den Grad an bereits wieder eingetretener Asynchronie. Am engsten beieinander liegen die Werte von Colon (59,00 % der Kontrolle) und Zunge (56,70 % der Kontrolle). Sie haben sich damit am weitesten einer physiologischen Asynchro-

nie genähert. Jejunum (42,39 % d.K.) und Duodenum (12,76 % d.K.) liegen noch weiter davon entfernt.

5.6. Vergleich der Zeitabstände DNA-Synthesemaximum - Mitosemaximum

Für das Duodenum und das Jejunum beträgt die Zeitdifferenz zwischen dem DNA-Synthesemaximum und dem Mitosemaximum jeweils 3-4 Stunden. Beim Colon folgt der Mitosegipfel dem des Markierungsindex im Abstand von 1-2 Stunden. Letzteres entspricht nahezu den aus der Literatur bekannten Angaben über den Normalabstand (Koburg u. Maurer 1962, Schultze et al. 1972). Nach diesen Angaben sollten die Dauer von G_2 - und Mitosephase bei den verschiedenen Darmepithelien einander entsprechen. Die für Duodenum und Jejunum beschriebenen Zeitunterschiede stellen damit Abweichungen von den physiologischen Verhältnissen der Zellerneuerung dar. Es läßt sich, wie erwähnt, zwar der Einbau tritiierten Thymidins in die DNA nicht als Beweis für unterbliebene Zellschädigung werten, jedoch belegt die jeweils ausgeprägte Zunahme des Mitoseindex, daß ein Großteil der Zellen die Zellteilung vollzieht und damit eine Beeinträchtigung der Überlebensfähigkeit dieses Teils zumindest für den ersten Generationszyklus unwahrscheinlich ist.

Auch hier bestätigt sich für das Colon wieder eine größere Nähe zum Normalverhalten der Zellen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

80 männliche Wistar-Ratten wurden einer 25-stündigen, DNA-synthesehemmenden Hydroxyharnstoff (HU)-Dauerinfusion unterworfen. Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich über 18 Stunden: Von zwei Stunden vor Beendigung des HU-Blocks bis 16 Stunden danach. Durch intraperitoneale Injektion radioaktiv markierten ^3H -Thymidins in stündlich versetzten Abständen konnte das Wiedereinsetzen der DNA-Synthese verfolgt werden. Als Kontrolle diente eine mit Ausnahme der HU-Dauerinfusion gleichbehandelte Gruppe von vier Tieren. Es erfolgte die Auswertung von Autoradiographien der Epithelien von Duodenum, Jejunum, Colon und Zunge eines jeden Tieres. Es zeigte sich, daß nach 25-stündiger HU-Dauerinfusion bei Duodenum, Jejunum, Colon und Zunge eine Regeneration des Epithels möglich ist. Für sämtliche untersuchten Organabschnitte bestätigte sich eine synchronisierende Wirkung von HU. Eine Akkumulation von S-Phasenzellen über ein die Normalwerte übersteigendes Maß hinaus fand sich beim Zungenepithel. In allen anderen Fällen ergab sich eine erhebliche Reduktion des

regenerationsfähigen Potentials. Eine Normalisierung der DNA-Synthesekinetik wurde auch im zweiten S-Phasenzyklus nach HU-Infusionsende von keinem Organ wieder erreicht. Das Wiedereinsetzen der DNA-Synthese läßt sich in zwei Phasen unterteilen: Zwei Stunden vom Ende der HU-Infusion anhaltend ist eine Phase geringer Inkorporation von ^3H -Thymidin abzugrenzen. Sie beruht möglicherweise auf der Ligierung von DNA-Bruchstücken, die auch unter HU-Hemmung in geringem Ausmaß synthetisiert werden. Ab drei Stunden nach Ende des HU-Blocks setzt die DNA-Synthese mit erhöhter Rate ein. Beide Phasen trennt eine Markierungslücke (vgl. Abb. 10). Die Unter- bzw. Obergrenze dieser Lücke, d.h. die Zahl markierter Zellen (mZ) bezogen auf 1000 ausgewertete Zellen (aZ) liegt beim Duodenum bei 15 mZ/1000 aZ bzw. 35 mZ/1000 aZ, beim Jejunum bei 26 mZ/1000 aZ bzw. 74 mZ/1000 aZ und beim Colon bei 72 mZ/1000 aZ bzw. 160 mZ/1000 aZ. Die Markierungslücke vergrößert und verschiebt sich gleichzeitig zu höheren Markierungseinzelwerten in der Reihenfolge Duodenum, Jejunum, Colon. Dieses Verhalten wird als Ausdruck abnehmender Empfindlichkeit der Epithelien auf die toxische Wirkung von HU in der genannten Abfolge gewertet. Der Bereich der höheren Markierungseinzelwerte ab drei Stunden nach HU-Block entspricht der

wiedereinsetzenden DNA-Synthese aus nicht präformierten DNA-Teilstücken nach Unterschreiten der hemmwirksamen HU-Konzentration.

Der Grad an Synchronisation ist korreliert mit der Größe der Influxrate der DNA-synthetisierenden Zellen. Im relevanten Bereich (vgl. 5.3.) ergab sich für das Duodenum ein Zuwachs von 3,25 %/Stunde, für das Jejunum von 3,55 %/Stunde und für das Colon von 9,75 %/Stunde. Der Synchronisationsgrad nimmt in der Reihenfolge Duodenum, Jejunum, Colon zu.

Der Markierungsindex der drei Organabschnitte Duodenum, Jejunum und Colon der Kontrolltiere ist annähernd gleich hoch: Duodenum 33,54 %, Jejunum 34,01 %, Colon 33,76 %. Bei den mit HU behandelten Tieren ist die Abweichung des Markierungsindex im ersten Maximum vom Kontrollwert am größten beim Duodenum ($12,66 \% \hat{=} 37,0 \%$ der Kontrolle), geringer beim Jejunum ($22,15 \% \hat{=} 65 \%$ d.K.). Beim Colon ist der Kontrollwert nahezu erreicht ($32,48 \% \hat{=} 96 \%$ d.K.). Die toxische HU-Wirkung auf das Schleimhautepithel nimmt von Duodenum über Jejunum zum Colon hin ab.

Das Kurvenverhalten nach Passage der ersten

S-Phase entspricht der Abfolge Duodenum, Jejunum und Colon. Beim Duodenum gleicht der zweite Anstieg des Markierungsindex, im zeitlichen Ablauf geringfügig gedehnt, dem des ersten Anstiegs. Das Jejunum läßt eine solche Parallelität nicht mehr erkennen, noch weniger das Colon. Der Abstand des zweiten Anstiegs vom zugehörigen ersten Maximum vergrößert sich vom Duodenum (3 Stunden) über Jejunum (6 Stunden) zum Colon (10 Stunden). Auch dies ein Hinweis auf die größere Asynchronie der zuletzt genannten im zweiten Generationszyklus.

Auch ein Vergleich der Zeitabstände des Markierungs- und des Mitoseindex läßt eine Abstufung der verschiedenen Organabschnitte erkennen, jedoch weniger deutlich als bisher. Der Abstand beträgt für Duodenum und Jejunum jeweils 3-4 Stunden, beim Colon 1-2 Stunden. Duodenum und Jejunum liegen über den aus der Literatur bekannten Werten. Das Colon zeigt den physiologischen Gegebenheiten nahezu entsprechende Verhältnisse und damit weniger Störung der Zellkinetik durch IU-Einfluß.

In allen untersuchten Parametern ergab sich ein Gradient vom Duodenum über Jejunum zum Colon.

Die entsprechenden Parameter für das Zungenepithel zeigen ähnliches Verhalten wie die Epithelzellen des Colons, d.h. eine vergleichsweise weitgehende Annäherung an die physiologischen Verhältnisse bereits im ersten Generationszyklus nach Ende des HU-Blocks. Es ist gekennzeichnet durch:

- eine große Markierungslücke von 50 mZ/1000 aZ (Untergrenze) bis 230 mZ/1000 aZ (Obergrenze).
- einen hohen Grad an Synchronisation (10,61 %) im Anstieg.
- einem Maximalwert des Markierungsindex von 37,97 % fünf Stunden nach Ende des HU-Blocks, der den Markierungsindex der Kontrollgruppe um das Doppelte übersteigt - ein Ausdruck der vergleichsweise geringen Sensibilität der Zungenepithelzellen des Stratum basale für toxische Komponenten von IU.
- ein geringes Ausmaß an Parallelität des ersten und zweiten Anstiegs der Markierungsindexkurve.

Obwohl die Zunge anatomisch dem Verdauungstrakt zuzuordnen ist, unterscheidet sie sich aufgrund ihrer Funktion im Aufbau der Schleimhaut als Plattenepithel vom intestinalen Epithel. Die gewonnenen Ergebnisse lassen sich deshalb nur bedingt mit den drei vorher besprochenen Organabschnitten vergleichen.

7. ABBILDUNGEN UND TABELLEN

7.1. Abbildungen

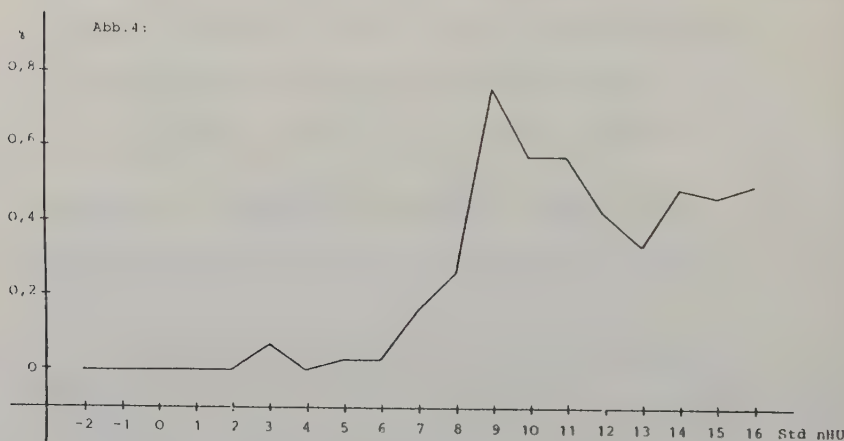
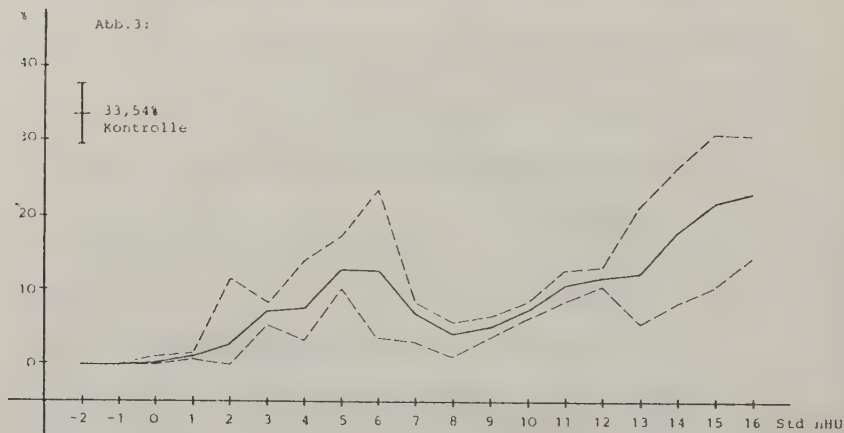


Abb. 3: Markierungsindex und Abb. 4: Mitoseindex der Duodenalkryptenzellen 60 Min. nach i.p. Injektion von ^3H -Thymin ($0,8 \mu\text{Ci/g}$) in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der ^3H -Thyminabgabe nach 25-stündiger HU-Dauerinfusion ($1,25 \times 10^{-3} \text{ Mol/kg/h}$).
Ausgezogene Linie (—): Mittelwert 8 ausgezählter Indices.
Unterbrochene Linie (---): Verbindungslinie der Maximal- bzw. Minimalwerte der Einzelindices.

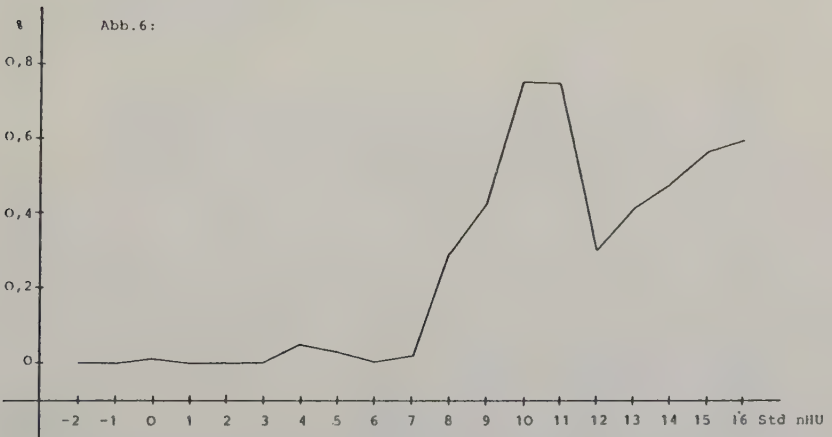
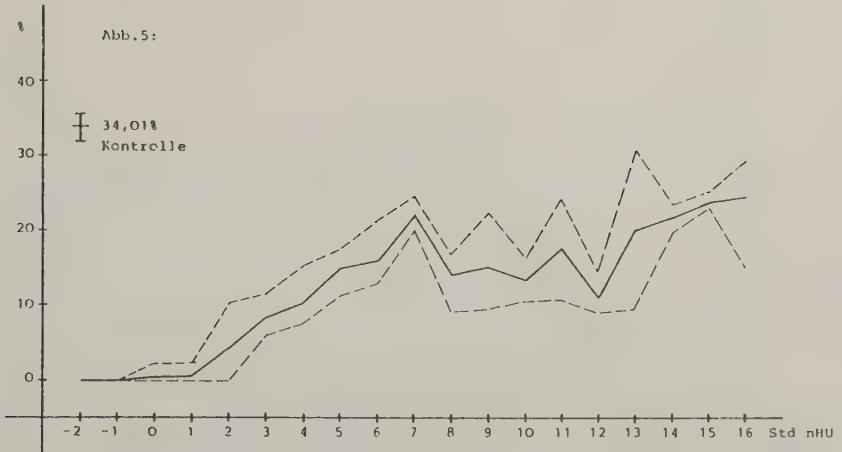


Abb. 5: Markierungsindex und Abb. 6: Mitoseindex der Jejununkryptenzellen 60 Min. nach i.p. Injektion von ^3H -Thymidin ($0,8 \mu\text{Ci/g}$) in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der ^3H -Thymidingabe nach 25-stündiger HU-Dauerinfusion ($1,25 \times 10^{-2} \text{ Mol/kg/h}$). Ausgezogene Linie (—): Mittelwert 8 ausgezählter Indices. Unterbrochene Linie (---): Verbindungslinie der Maximal- bzw. Minimalwerte der Einzelindices.

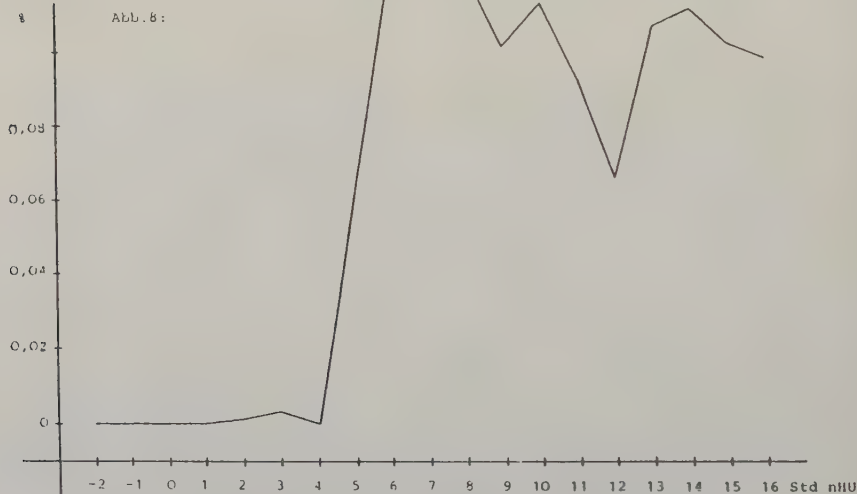
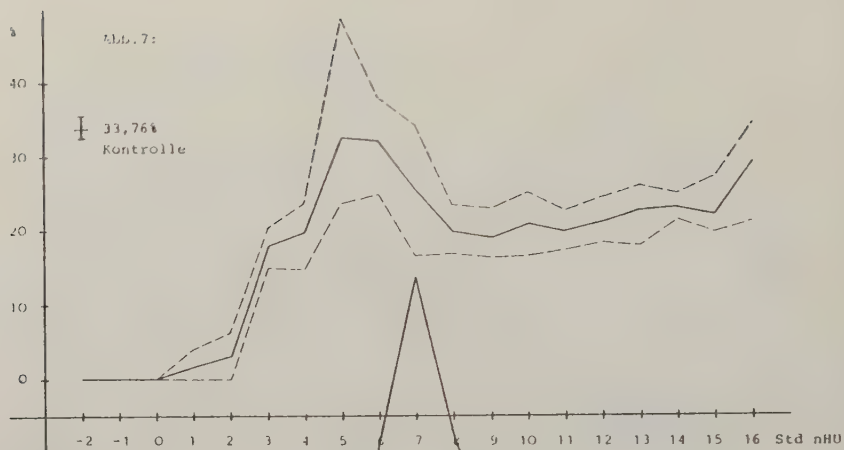


Abb. 7: Markierungsindex und Abb. 8: Mitoseindex der Colonskryptenzellen 60 Min. nach i.p. Injektion von ^3H -Thymidin ($0,8 \mu\text{Ci/g}$) in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der ^3H -Thymidingabe nach 25-stündiger HU-Dauerinfusion ($1,25 \times 10^{-3} \text{ Mol/kg/h}$). Ausgezogene Linie (—): Mittelwert 8 ausgezählter Indices. Unterbrochene Linie (---): Verbindungsline der Maximal- bzw. Minimalwerte der Einzelindices.

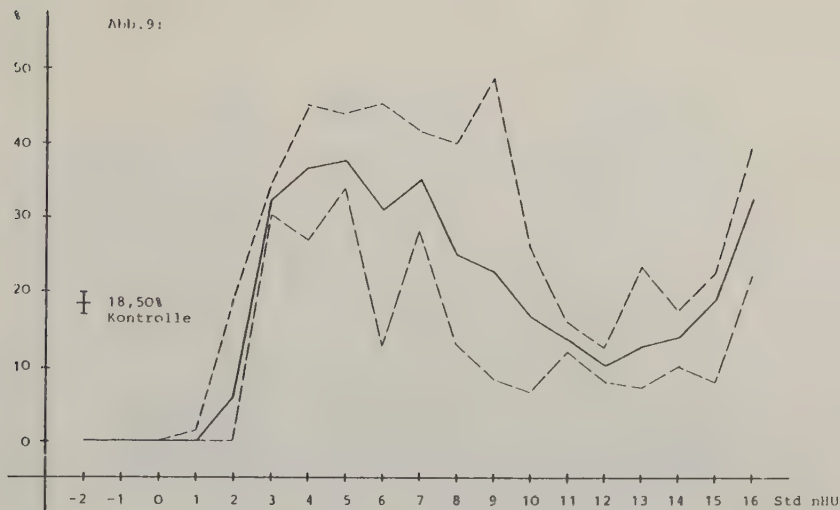
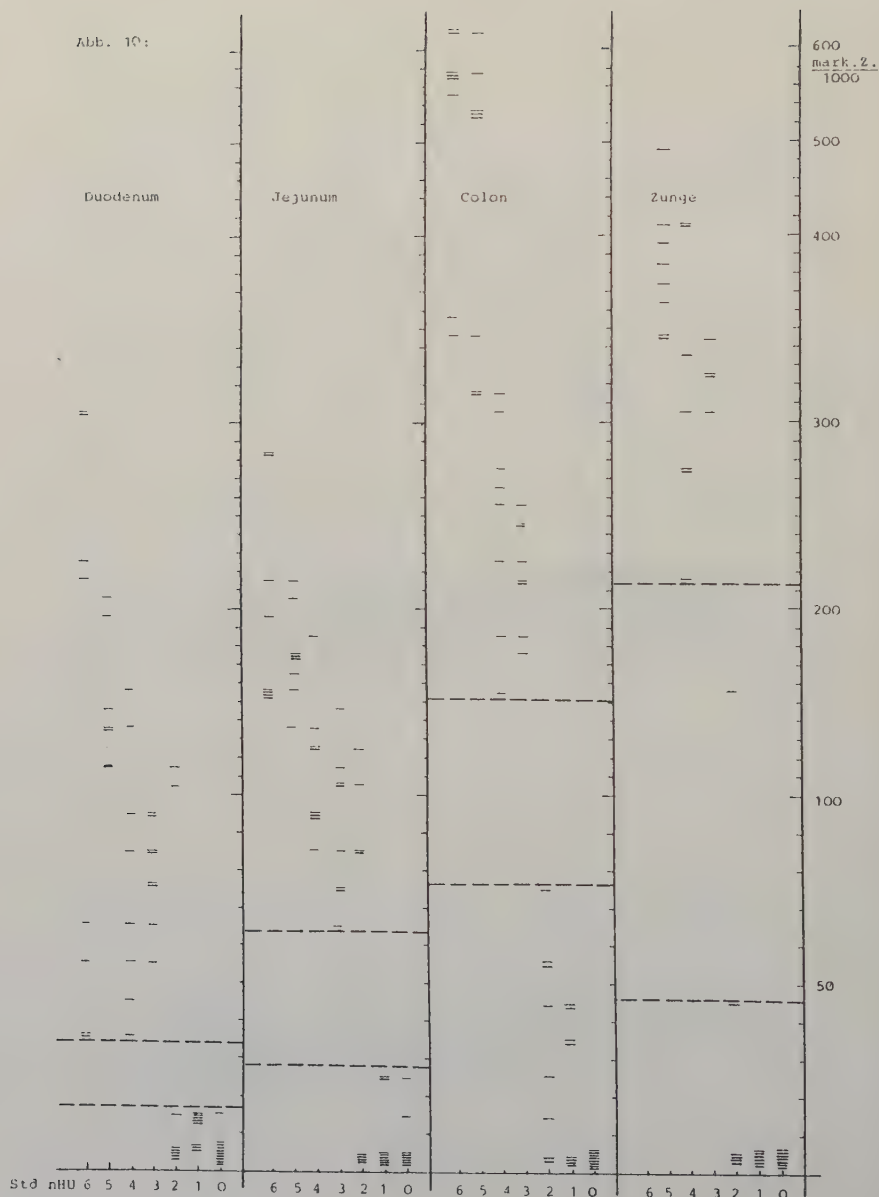


Abb. 9: Markierungsindex der Zungenepithelzellen (Stratum basale) 60 Min. nach i.p. Injektion von ^3H -Thymidin ($0,8 \mu\text{Ci/g}$) in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der ^3H -Thymidingabe nach 25-stündiger HU-Dauerinfusion ($1,25 \times 10^{-3} \text{ Mol/kg/h}$). Ausgezogene Linie (—): Mittelwert 8 ausgezählter Indices. Unterbrochene Linie (---): Verbindungslinie der Maximal- bzw. Minimalwerte der Einzelindices

Abb. 10: Verteilung der Einzelindices im für das Unterschreiten der hemmwirksamen Konzentration relevanten Zeitintervall Std 0 - 6 nHU. Erfassung der Zellen in 10-er Schritten bis 400, in 20-er Schritten ab 400.

Abb. 10:



7.2. Tabellen

Tabellarische Zusammenstellung der Einzelwerte der Auszählung von Autoradiographie-Präparaten des Duodenum, Jejunum, Colon und der Zunge 60 Minuten nach ^3H -Thymidingabe, in stündlichen Intervallen während und nach 25-stündiger HU-Infusion.

Die Bezeichnung der Stunde richtet sich nach dem Ende der HU-Dauerinfusion. Es bedeutet:

- negatives Vorzeichen: Stunden vor Infusionsende
- ohne Vorzeichen: Stunden nach Infusionsende
- Stunde 0: Zeitpunkt des Infusionsendes

Duodenum: Kontrolle

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
K1	1015	555	1608	34,51	38	2,363	
K1	1006	629	1671	37,64	36	2,154	
K2	1015	442	1472	30,02	15	1,019	
K2	1007	433	1458	29,69	18	1,234	
K3	1003	534	1560	34,23	23	1,474	
K3	1011	519	1556	33,35	26	1,670	
K4	1006	567	1602	35,39	29	1,810	
K4	1004	518	1545	33,52	23	1,488	
Summe	8067	4197	12472				

Mittelwert Markierungsindex : 33,54 % $\pm$ 2,47

Mittelwert Mitoseindex : 1,651 % $\pm$ 0,420

Duodenum: Std. -2

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
A1	1014	0	1017	0,00	0	0	
A1	1012	0	1020	0,00	0	0	
B1	1033	0	1033	0,00	0	0	
B1	1056	0	1056	0,00	0	0	
C1	1038	0	1038	0,00	0	0	
C1	1011	0	1011	0,00	0	0	
D1	1025	0	1036	0,00	0	0	
D1	1014	0	1022	0,00	0	0	
Summe	8203	0	8233				

Mittelwert Markierungsindex : 0,00 %

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Duodenum: Std. -1

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
A2	1008	0	1008	0,00	0	0	
A2	1014	0	1014	0,00	0	0	
B2	1023	0	1023	0,00	0	0	
B2	1155	0	1155	0,00	0	0	
C2	1056	0	1056	0,00	0	0	
C2	1009	0	1009	0,00	0	0	
D2	1011	0	1011	0,00	0	0	
D2	1003	0	1003	0,00	0	0	
Summe	8279	0	8283				

Mittelwert Markierungsindex : 0,00 %

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Duodenum: Std. 0

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a1	1002	8	1010	0,79	0	0	viele Entzündungs- zellen
a1	1005	11	1016	1,08	0	0	
b1	1021	0	1021	0,00	0	0	
b1	1017	4	1021	0,39	0	0	
c1	1016	3	1019	0,29	0	0	viele Entzündungs- zellen
c1	1007	0	1007	0,00	0	0	
d1	1006	2	1008	0,19	0	0	
d1	1030	0	1030	0,00	0	0	
Summe	8104	28	8132				

Mittelwert Markierungsindex : 0,34 % $\pm$ 0,37

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Duodenum: Std. 1

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a2	1014	8	1022	0,78	0	0	
a2	1030	13	1043	1,24	0	0	
b2	1010	14	1024	1,36	0	0	
b2	1037	8	1045	0,76	0	0	
c2	1039	12	1051	1,14	0	0	
c2	1018	15	1033	1,45	0	0	
d2	1016	10	1026	0,97	0	0	
d2	1029	13	1042	1,24	0	0	
Summe	8193	93	8286				

Mittelwert Markierungsindex : $1,11 \% \pm 0,24$

Mittelwert Mitoseindex : $0,000 \%$

Duodenum: Std. 2

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a3	1009	3	1012	0,00	0	0	
a3	1003	11	1014	0,29	0	0	
b3	1005	0	1005	0,00	0	0	
b3	1008	0	1008	0,00	0	0	
c3	1012	5	1017	0,49	0	0	
c3	1001	4	1005	0,39	0	0	
d3	1005	118	1123	11,74	0	0	
d3	1004	103	1107	10,25	0	0	
Summe	8047	244	8291				

Mittelwert Markierungsindex : 2,89 % $\pm$ 4,69

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Duodenum: Std. 3

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a4	1036	88	1124	7,82	0	0	kontrolliert
a4	1004	87	1091	7,97	0	0	
b4	1075	93	1168	7,96	0	0	nachgeschnitten
b4	1074	96	1170	8,20	0	0	
c4	977	54	1033	5,22	2	0,193	nachgeschnitten
c4	1080	72	1152	6,25	0	0	
d4	1031	64	1096	5,84	1	0,091	
d4	999	79	1081	7,31	3	0,277	
Summe	8276	633	8915				

Mittelwert Markierungsindex : $7,07 \pm 1,06$

Mittelwert Mitoseindex : $0,070 \pm 0,100$

Duodenum: Std. 4

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a5	1014	135	1149	11,74	0	0	
a5	1053	155	1208	13,98	0	0	
b5	1029	35	1065	3,28	0	0	
b5	1003	44	1047	4,20	0	0	
c5	1011	82	1093	7,50	0	0	nachgeschnitten, viele Lympho- zyten
c5	1022	93	1115	8,34	0	0	
d5	1006	68	1074	6,33	0	0	
d5	1015	56	1071	5,22	0	0	
Summe	8153	668	8821				

Mittelwert Markierungsindex : $7,57 \% \pm 3,46$

Mittelwert Mitoseindex : $0,000 \%$

Duodenum: Std. 5

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a6	1033	129	1162	11,10	0	0	
a6	1023	135	1157	11,66	0	0	
b6	1016	150	1166	12,86	0	0	
b6	1012	117	1129	10,36	0	0	
c6	1004	136	1142	11,90	2	0,175	
c6	1026	117	1143	10,24	0	0	
d6	1006	194	1200	16,17	0	0	nachgeschnitten
d6	1008	207	1216	17,02	1	0,082	
Summe	8128	1185	9315				

Mittelwert Markierungsindex : $12,66 \pm 2,41$

Mittelwert Mitoseindex : $0,032 \pm 0,060$

Duodenum: Std. 6

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a7	1002	40	1042	3,83	0	0	
a7	1007	36	1043	3,45	0	0	
b7	1001	65	1066	6,09	0	0	
b7	1092	58	1151	5,04	1	0,086	
c7	1003	213	1217	17,50	1	0,082	nachgeschnitten
c7	1017	223	1240	17,98	0	0	
d7	1006	309	1315	23,50	0	0	nachgeschnitten
d7	1008	304	1313	23,15	1	0,076	
Summe	8136	1248	9387				

Mittelwert Markierungsindex : $12,57 \% \pm 8,24$

Mittelwert Mitoseindex : $0,030 \% \pm 0,039$

Duodenum: Std. 7

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a8	1003	75	1078	6,95	0	0	
a8	1011	81	1094	7,40	2	0,182	
b8	1016	89	1105	8,05	0	0	
b8	1023	88	1112	7,90	1	0,089	
c8	1097	83	1013	7,56	1	0,091	
c8	1013	62	1080	5,74	5	0,462	
d8	1000	91	1093	8,32	2	0,182	
d8	1055	33	1091	3,02	3	0,274	
Summe	8218	602	8820				

Mittelwert Markierungsindex : 6,86 % $\pm$ 1,63

Mittelwert Mitoseindex : 0,160 % $\pm$ 0,144

Duodenum: Std. 8

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a9	1001	13	1014	1,28	0	0	
a9	1179	32	1213	2,63	2	0,164	
b9							keine Markierung
b9							vgl. entsprech.
							<u>Präparate</u>
c9	1003	63	1070	5,88	4	0,373	
c9	1003	60	1069	5,61	6	0,561	
d9	1045	51	1097	4,64	1	0,091	
d9	1033	62	1099	5,64	4	0,363	
Summe	6264	281	6545				

Mittelwert Markierungsindex : 4,28 % $\pm$ 1,73

Mittelwert Mitoseindex : 0,258 % $\pm$ 0,191

Duodenum: Std. 9

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a10	1006	73	1085	6,72	6	0,552	nachgeschnitten
a10	1016	48	1067	4,49	3	0,281	
b10	1002	47	1055	4,45	6	0,568	
b10	1083	36	1123	3,70	4	0,356	
c10	1055	53	1115	4,75	7	0,627	nachgeschnitten
c10	1035	64	1112	5,75	13	1,169	
d10	1017	72	1100	6,54	11	1,000	
d10	1027	43	1086	3,95	16	1,473	
Summe	8241	436	8677				

Mittelwert Markierungsindex : 5,04 % $\pm$ 1,07

Mittelwert Mitoseindex : 0,753 % $\pm$ 0,391

Duodenum: Std. 10

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a11	1014	68	1087	6,25	5	0,459	Markierung schwach
a11	1048	82	1139	7,19	9	0,790	
b11	1008	73	1092	6,68	11	1,007	
b11	1008	80	1094	7,31	6	0,548	
c11	1040	95	1142	8,31	7	0,612	
c11	1026	89	1120	7,94	5	0,446	
d11	1000	85	1089	7,80	4	0,367	
d11	1005	81	1090	7,43	4	0,366	
Summe	8149	653	8802				

Mittelwert Markierungsindex : 7,36 % $\pm$ 0,62

Mittelwert Mitoseindex : 0,574 % $\pm$ 0,209

Duodenum: Std. 11

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a12	1007	110	1126	9,76	9	0,799	
a12	1016	108	1133	9,53	9	0,794	
b12	1043	105	1156	9,08	8	0,692	
b12	1014	148	1167	12,68	5	0,428	
c12	1023	132	1166	11,32	11	0,943	nachgeschnitten
c12	1019	129	1154	11,17	6	0,519	
d12	1011	141	1154	12,21	2	0,173	
d12	1040	98	1142	8,58	4	0,261	
Summe	8173	971	9144				

Mittelwert Markierungsindex : 10,54 % $\pm$ 1,41

Mittelwert Mitoseindex : 0,576 % $\pm$ 0,257

Duodenum: Std. 12

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a13	1005	144	1151	12,51	2	0,173	
a13	1008	119	1131	10,52	4	0,353	
b13							keine Markierung vgl. entspr. Präparate anderer Organe
b13							
c13	1005	124	1135	10,92	6	0,528	
c13	1002	140	1149	12,18	7	0,609	
d13	1008	152	1165	13,04	5	0,429	
d13	1003	123	1131	10,87	5	0,442	
Summe	6062	802	6864				

Mittelwert Markierungsindex : 11,67 % $\pm$ 0,94

Mittelwert Mitoseindex : 0,422 % $\pm$ 0,137

Duodenum: Std. 13

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a14	1001	136	1145	11,87	8	0,698	
a14	1013	135	1150	11,73	2	0,173	
b14	1007	194	1204	16,11	3	0,249	viele Leuko- zyten
b14	1023	278	1308	21,25	5	0,382	
c14	1014	128	1143	11,19	1	0,087	nachgeschnitten
c14	1021	113	1139	9,92	5	0,438	
d14	1025	106	1133	9,35	2	0,176	viele Leuko- zyten
d14	1028	61	1094	5,57	5	0,457	
Summe	8132	1151	9283				

Mittelwert Markierungsindex : 12,12 % $\pm$ 4,41

Mittelwert Mitoseindex : 0,332 % $\pm$ 0,187

Duodenum: Std. 14

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a15	1008	271	1283	21,12	4	0,311	
a15	1011	278	1293	21,50	4	0,309	
b15	1006	366	1378	26,56	6	0,435	Markierung schwach
b15	1028	239	1272	18,78	5	0,393	
c15	1001	90	1098	8,19	7	0,637	
c15	1002	91	1096	8,30	3	0,273	
d15	1010	221	1243	17,77	12	0,965	
d15	1026	245	1278	19,17	7	0,547	
Summe	8092	1801	9893				

Mittelwert Markierungsindex : 17,67 % $\pm$ 5,98

Mittelwert Mitoseindex : 0,483 % $\pm$ 0,216

Duodenum: Std. 15

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a16	1037	428	1473	29,05	8	0,543	
a16	1003	417	1426	29,24	6	0,420	
b16	1011	121	1136	10,65	4	0,352	markierung schwach
b16	1009	117	1128	10,37	2	0,177	
c16	1005	191	1102	17,33	6	0,544	
c16	1021	185	1213	15,25	7	0,577	
d16	1007	424	1438	29,48	7	0,486	
d16	1007	451	1467	30,74	9	0,613	
Summe	8100	2334	10434				

Mittelwert Markierungsindex : 21,51 % $\pm$ 8,39

Mittelwert Mitoseindex : 0,464 % $\pm$ 0,134

Duodenum: Std. 16

tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a17	1004	255	1262	20,20	3	0,237	
a17	1011	210	1224	17,15	2	0,163	
b17	1009	247	1263	19,55	7	0,554	
b17	1064	178	1245	14,29	3	0,240	
c17	1021	385	1406	27,38	7	0,497	
c17	1016	448	1470	30,47	14	0,952	
d17	1004	388	1400	27,71	8	0,571	
d17	1033	372	1415	26,28	10	0,706	
Summe	8162	2483	10645				

Mittelwert Markierungsindex : 22,87 % $\pm$ 5,45

Mittelwert Mitoseindex : 0,490 % $\pm$ 0,251

Jejunum: Kontrolle

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
K1	1014	573	1813	35,52	26	1,611	
K1	1007	493	1538	32,05	38	2,470	
K2	1004	544	1576	34,51	28	1,776	
K2	1012	539	1581	34,09	30	1,897	
K3	1003	556	1584	35,10	25	1,578	
K3	1009	533	1571	33,92	29	1,845	
K4	1011	512	1557	32,88	34	2,183	
K4	1017	543	1596	34,02	36	2,255	
Summe	8077	4293	12616				

Mittelwert Markierungsindex : 34,01 % $\pm$ 1,05

Mittelwert Mitoseindex : 1,951 % $\pm$ 0,319

Jejunum: Std. -2

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
A1	1012	0	1012	0,00	0	0	
A1	1007	0	1007	0,00	0	0	
B1	1008	0	1008	0,00	0	0	
B1	1022	0	1022	0,00	0	0	
C1	1003	0	1033	0,00	0	0	
C1	1010	0	1010	0,00	0	0	
D1	1018	0	1018	0,00	0	0	
D1	1007	0	1007	0,00	0	0	
Summe	8090	0	8090				

Mittelwert Markierungsindex : 0,00 %

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Jejunum: Std. -1

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
A2	1015	0	1015	0,00	0	0	
A2	1011	0	1011	0,00	0	0	
B2	1100	0	1100	0,00	0	0	
B2	1003	0	1003	0,00	0	0	
C2	1070	0	1070	0,00	0	0	
C2	1023	0	1023	0,00	0	0	
D2	1003	0	1003	0,00	0	0	
D2	1008	0	1008	0,00	0	0	
Summe	8213	0	8213				

Mittelwert Markierungsindex : 0,00 %

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Jejunum: Std. O

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a1	1113	0	1113	0,00	0	0	
a1	1013	0	1013	0,00	0	0	
b1	1004	20	1024	1,95	0	0	Schleimhaut de- generiert v. Ent- zündungszellen
b1	1013	24	1038	2,31	1	0,096	
c1	1007	0	1007	0,00	0	0	
c1	1018	0	1018	0,00	0	0	
d1	1006	0	1006	0,00	0	0	
d1	1012	0	1012	0,00	0	0	
Summe	8176	44	8221				

Mittelwert Markierungsindex : 0,53 % $\pm$ 0,92

Mittelwert Mitoseindex : 0,012 % $\pm$ 0,031

Jejunum: Std. 1

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a2	1008	0	1008	0,00	0	0	
a2	1013	0	1013	0,00	0	0	
b2	1041	0	1041	0,00	0	0	
b2	1027	0	1027	0,00	0	0	
c2	1079	26	1105	2,35	0	0	v. Entzündungs- zellen
c2	1054	26	1080	2,40	0	0	
d2	1120	0	1120	0,00	0	0	
d2	1020	0	1020	0,00	0	0	
Summe	8262	52	8314				

Mittelwert Markierungsindex : 0,59 % $\pm$ 1,02

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Jejunum: Std. 2

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a3	1003	0	1003	0,00	0	0	
a3	1011	0	1011	0,00	0	0	
b3	1024	0	1024	0,00	0	0	
b3	1010	0	1010	0,00	0	0	
c3	1013	82	1095	7,48	0	0	
c3	1014	86	1100	7,18	0	0	
d3	1023	105	1128	9,30	0	0	
d3	1052	123	1175	10,46	0	0	
Summe	8150	396	8546				

Mittelwert Markierungsindex : 4,30 % $\pm$ 4,40

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Jejunum: Std. 3

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a4	1016	135	1151	11,72	0	0	
a4	1025	101	1126	8,96	0	0	
b4	1033	69	1102	6,26	0	0	
b4	1024	79	1103	7,16	0	0	
c4	1040	74	1114	6,64	0	0	
c4	1008	86	1114	7,71	0	0	
d4	1008	108	1116	9,67	0	0	
d4	1002	112	1114	10,05	0	0	
Summe	8156	764	8920				

Mittelwert Markierungsindex : 8,52 % $\pm$ 1,77

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Jejunum: Std. 4

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a5	1005	92	1097	8,38	0	0	
a5	1013	99	1112	8,90	0	0	
b5	1002	85	1087	7,81	0	0	
b5	1007	91	1100	8,27	2	0,183	
c5	1012	186	1199	15,51	1	0,090	
c5	1012	128	1140	11,22	2	0,166	
d5	1040	130	1170	11,00	0	0	
d5	1026	139	1165	11,93	0	0	
Summe	8115	950	9070				

Mittelwert Markierungsindex : 10,37 % $\pm$ 2,42

Mittelwert Mitoseindex : 0,054 % $\pm$ 0,075

Jejunum: Std. 5

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a6	1049	202	1252	16,13	1	0,095	
a6	1005	218	1223	17,82	0	0	
b6	1012	172	1184	14,52	0	0	
b6	1025	173	1199	14,42	1	0,097	
c6	1055	137	1192	11,49	0	0	
c6	1007	153	1161	13,17	1	0,099	
d6	1006	204	1210	16,85	0	0	
d6	1011	198	1209	16,37	0	0	
Summe	8170	1457	9630				

Mittelwert Markierungsindex : 15,09 % $\pm$ 1,95

Mittelwert Mitoseindex : 0,036 % $\pm$ 0,046

Jejunum: Std. 6

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a7	1014	158	1172	13,48	0	0	
a7	1008	153	1161	13,17	0	0	
b7	1018	154	1172	13,13	0	0	
b7	1003	152	1155	13,16	0	0	
c7	1022	191	1213	15,74	0	0	
c7	1012	211	1223	17,25	0	0	
d7	1088	185	1363	20,90	0	0	
d7	1021	281	1308	21,48	0	0	
Summe	8186	1585	9771				

Mittelwert Markierungsindex : 16,03 $\pm$ 3,28

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Jejunum: Std. 7

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a8	1054	301	1355	22,21	0	0	
a8	1025	307	1332	23,04	0	0	
b8	1010	266	1277	20,83	1	0,078	kontrolliert
b8	1019	254	1263	20,11	0	0	
c8	1041	306	1447	21,14	0	0	kontrolliert
c8	1044	299	1344	22,24	1	0,074	
d8	1038	309	1347	22,93	0	0	
d8	1011	333	1344	24,77	0	0	
Summe	8242	2375	10617				

Mittelwert Markierungsindex : 22,15 % $\pm$ 1,37

Mittelwert Mitoseindex : 0,019 % $\pm$ 0,032

Jejunum: Std. 8

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a9	1020	211	1237	17,05	6	0,485	
a9	1053	204	1261	16,17	4	0,317	
b9							keine Markierung, vgl. entsprech.
b9							Präparate anderer Organe
c9	1015	167	1186	14,08	4	0,337	
c9	1018	178	1199	14,84	3	0,250	
d9	1036	165	1101	14,98	0	0	
d9	1008	105	1117	9,40	4	0,358	
Summe	6150	1030	7180				

Mittelwert Markierungsindex : 14,42 % $\pm$ 2,44

Mittelwert Mitoseindex : 0,291 % $\pm$ 0,147

Jejunum: Std. 9

tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a10	1018	109	1130	9,64	3	0,265	
a10	1032	122	1159	10,52	5	0,431	
b10	1023	108	1034	10,44	3	0,290	
b10	1030	245	1287	19,34	8	0,621	
c10	1024	304	1335	22,77	7	0,524	
c10	1006	251	1264	19,85	7	0,553	
d10	1011	183	1188	15,40	4	0,336	
d10	1035	183	1223	14,96	5	0,408	
Summe	8179	1509	9688				

Mittelwert Markierungsindex : 15,36 % $\pm$ 4,62

Mittelwert Mitoseindex : 0,428 % $\pm$ 0,120

Jejunum: Std. 10

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a11	1002	165	1177	14,01	10	0,849	
a11	1028	205	1246	16,45	13	1,043	
b11	1009	148	1166	12,69	9	0,771	
b11	1020	123	1151	10,68	8	0,695	
c11	1007	145	1158	12,52	6	0,518	
c11	1008	144	1159	12,42	7	0,603	
d11	1028	181	1218	14,86	8	0,656	
d11	1018	183	1212	15,09	11	0,907	
Summe	8100	1294	9394				

Mittelwert Markierungsindex : 13,59 % $\pm$ 1,73

Mittelwert Mitoseindex : 0,755 % $\pm$ 0,161

Jejunum: Std. 11

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a12	1014	164	1186	13,82	8	0,674	
a12	1006	181	1195	15,14	8	0,669	
b12	1002	250	1266	19,74	14	1,105	dickerer Schnitt
b12	1038	292	1344	21,72	14	1,041	
c12	1043	318	1373	23,16	12	0,873	
c12	1078	355	1445	24,56	12	0,830	
d12	1024	166	1198	13,85	8	0,667	Schleimhaut defekt? (dünneres Stroma)
d12	1021	126	1149	10,96	2	0,174	
Summe	8226	1852	10078				

Mittelwert Markierungsindex : 17,86 % $\pm$ 4,27

Mittelwert Mitoseindex : 0,754 % $\pm$ 0,269

Jejunum: Std. 12

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a13	1044	130	1178	11,03	4	0,339	
a13	1021	103	1128	9,13	4	0,354	
b13							keine Markierung, vgl. entsprach. Präparate anderer Organe
b13							
c13	1009	175	1190	14,70	6	0,504	
c13	1005	143	1150	12,43	2	0,173	
d13	1012	102	1116	9,13	2	0,179	
d13	1060	139	1202	11,56	3	0,249	
Summe	6151	792	6943				

Mittelwert Markierungsindex : 11,33 % $\pm$ 1,93

Mittelwert Mitoseindex : 0,299 % $\pm$ 0,115

Jejunum: Std. 13

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a14	1018	356	1178	30,22	4	0,339	nachgeschnitten
a14	1070	418	1493	27,99	5	0,334	
b14	1032	281	1317	21,33	4	0,303	nachgeschnitten
b14	1016	462	1485	31,11	7	0,471	
c14	1017	161	1182	13,62	4	0,338	
c14	1018	196	1218	16,09	4	0,328	
d14	1024	111	1140	9,73	5	0,438	
d14	1009	142	1160	12,24	9	0,775	
Summe	8204	2127	10331				

Mittelwert Markierungsindex : 20,29 % $\pm$ 8,01

Mittelwert Mitoseindex : 0,415 % $\pm$ 0,146

Jejunum: Std. 14

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a15	1047	262	1315	19,92	6	0,456	
a15	1011	274	1289	21,25	4	0,310	
b15	1034	313	1351	23,16	4	0,296	
b15	1037	300	1344	22,32	7	0,520	
c15	1037	278	1323	21,01	8	0,604	
c15	1000	286	1294	22,10	8	0,618	
d15	1007	301	1315	22,88	7	0,532	
d15	1006	311	1314	23,66	7	0,532	
Summe	8179	2325	10506				

Mittelwert Markierungsindex : 22,03 % $\pm$ 1,16

Mittelwert Mitoseindex : 0,483 % $\pm$ 0,114

Jejunum: Std. 15

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a16	1013	322	1342	23,99	7	0,521	
a16	1017	335	1358	24,66	6	0,441	
b16	1019	318	1345	23,64	8	0,594	
b16	1008	312	1328	23,49	5	0,602	
c16	1006	321	1347	23,83	10	0,742	
c16	1021	329	1358	24,22	8	0,589	
d16	1003	345	1357	25,42	9	0,663	
d16	1028	326	1360	23,97	6	0,441	
Summe	8115	2608	10723				

Mittelwert Markierungsindex : 24,15 % $\pm$ 0,58

Mittelwert Mitoseindex : 0,574 % $\pm$ 0,097

Jejunum: Std. 16

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a17	1018	369	1394	26,47	7	0,502	
a17	1025	396	1428	27,73	7	0,490	
b17	1011	332	1350	24,59	7	0,518	
b17	1033	388	1430	27,13	9	0,629	
c17	1007	233	1248	18,66	8	0,641	
c17	1011	181	1200	15,08	8	0,666	
d17	1000	404	1415	28,55	11	0,777	
d17	1004	429	1442	29,75	9	0,624	
Summe	8109	2732	10841				

Mittelwert Markierungsindex : 24,74 % $\pm$ 4,84

Mittelwert Mitoseindex : 0,605 % $\pm$ 0,091

Colon: Kontrolle

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
K1	1004	517	1545	33,46	24	1,553	
K1	1003	565	1600	35,31	32	2,000	
K2	1011	515	1566	32,88	40	2,554	
K2	1008	523	1569	33,33	38	2,421	
K3	1009	533	1565	34,05	23	1,469	
K3	1018	541	1589	34,04	30	1,887	
K4	1003	522	1561	33,44	36	2,306	
K4	1010	527	1568	33,60	31	1,977	
Summe	8066	4243	12563				

Mittelwert Markierungsindex : 33,76 % $\pm$ 0,68

Mittelwert Mitoseindex : 2,020 % $\pm$ 0,365

Colon: Std. -2

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
A1	1057	0	1057	0,00	0	0	
A1	1003	0	1003	0,00	0	0	
B1	1015	0	1015	0,00	0	0	
B1	1028	0	1028	0,00	0	0	Schleimhaut ziemlich zerstört, viele Zelltrümmer im Lumen
C1	1054	0	1054	0,00	0	0	
C1	1017	0	1017	0,00	0	0	
D1	1038	0	1038	0,00	0	0	
D1	1003	0	1003	0,00	0	0	
Summe	8215	0	8215				

Mittelwert Markierungsindex : 0,00 %

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Colon: Std. -1

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
A2	1013	0	1013	0,00	0	0	
A2	1021	0	1021	0,00	0	0	
B2	1037	0	1037	0,00	0	0	viele Zelltrümmer im Kryptenlumen am Grund
B2	1043	0	1043	0,00	0	0	
D2	1017	0	1017	0,00	0	0	viele Zelltrümmer
D2	1055	0	1055	0,00	0	0	
Summe	8192	0	8192				

Mittelwert Markierungsindex : 0,00 %

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Colon: Std. 0

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a1	1012	0	1012	0,00	0	0	
a1	1032	0	1032	0,00	0	0	
b1	1016	0	1016	0,00	0	0	
b1	1017	0	1017	0,00	0	0	
c1	1077	0	1077	0,00	0	0	
c1	1013	0	1013	0,00	0	0	
d1	1028	0	1028	0,00	0	0	
d1	1012	0	1012	0,00	0	0	
Summe	8207	0	8207				

Mittelwert Markierungsindex : 0,00 %

Mittelwert Mitoseindex : 0,00 %

Colon: Std. 1

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a2	1024	0	1024	0,00	0	0	
a2	1018	0	1018	0,00	0	0	
b2	1006	33	1039	3,17	0	0	
b2	1006	31	1037	2,98	0	0	
c2	1042	0	1042	0,00	0	0	
c2	1004	0	1004	0,00	0	0	
d2	1004	42	1046	4,01	0	0	
d2	1011	45	1056	4,26	0	0	
Summe	8115	153	8268				

Mittelwert Markierungsindex : 1,80 % $\pm$ 1,84

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Colon: Std. 2

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a3	1006	58	1064	5,45	0	0	
a3	1017	27	1045	2,58	1	0,098	
b3	1013	0	1013	0,00	0	0	nachgeschnitten, da alt, rosa Farbstich
b3	1007	0	1007	0,00	0	0	
c3	1004	57	1061	5,37	0	0	nachgeschnitten
c3	1013	16	1029	1,55	0	0	
d3	1060	72	1132	6,36	0	0	nachgeschnitten
d3	1009	48	1057	4,54	0	0	
Summe	8129	278	8408				

Mittelwert Markierungsindex : 3,23 % $\pm$ 2,37

Mittelwert Mitoseindex : 0,012 % $\pm$ 0,032

Colon: Std. 3

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a4	1003	181	1184	15,28	0	0	
a4	1002	218	1221	17,85	1	0,099	
b4	1008	212	1220	17,37	0	0	kontrolliert
b4	1007	230	1237	18,59	0	0	
c4	1009	249	1259	19,77	1	0,099	
c4	1003	259	1262	20,52	0	0	
d4	1004	177	1181	14,98	0	0	
d4	1016	242	1259	19,22	1	0,098	
Summe	8052	1768	9823				

Mittelwert Markierungsindex : 17,94 % $\pm$ 1,87

Mittelwert Mitoseindex : 0,037 % $\pm$ 0,047

Colon: Std. 4

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a5	1046	181	1227	14,75	0	0	
a5	1018	262	1280	20,46	0	0	
b5	1000	230	1230	18,69	0	0	kontrolliert
b5	1023	160	1183	14,77	0	0	
c5	1017	280	1297	21,58	0	0	kontrolliert
c5	1010	315	1325	23,77	0	0	
d5	1014	256	1270	20,15	0	0	
d5	1001	307	1308	23,47	0	0	
Summe	8129	1991	10120				

Mittelwert Markierungsindex : 19,70 % $\pm$ 3,25

Mittelwert Mitoseindex : 0,000 %

Colon: Std. 5

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a6	1013	321	1334	24,06	0	0	
a6	1031	321	1355	23,69	3	0,221	
b6	1003	351	1356	25,88	2	0,147	
b6	1020	959	1981	48,40	2	0,100	
c6	1009	536	1556	34,44	11	0,706	
c6	1016	524	1560	33,58	20	1,282	
d6	1031	534	1583	33,73	18	1,137	kontrolliert
d6	1054	609	1686	36,12	23	1,364	
Summe	8177	4155	12332				

Mittelwert Markierungsindex : 32,48 % $\pm$ 7,62

Mittelwert Mitoseindex : 0,619 % $\pm$ 0,536

Colon: Std. 6

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a7	1058	556	1626	34,19	12	0,738	
a7	1054	646	1708	37,82	8	0,468	
b7	1031	471	1507	31,25	5	0,331	kontrolliert
b7	1022	464	1491	31,12	5	0,335	
c7	1002	353	1385	25,41	30	2,166	nachgeschnitten
c7	1004	342	1373	24,90	27	1,966	
d7	1024	598	1656	36,11	34	2,053	
d7	1011	573	1612	35,54	28	1,736	
Summe	8206	4003	12209				

Mittelwert Markierungsindex : 32,04 % $\pm$ 4,51

Mittelwert Mitoseindex : 1,224 % $\pm$ 0,773

Colon: Std. 7

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a8	1024	542	1586	34,17	20	1,261	
a8	1090	536	1659	32,30	23	1,386	
b8	1009	377	1406	25,03	20	1,422	
b8	1011	219	1245	16,52	15	1,204	
c8	1016	310	1350	22,96	24	1,777	
c8	1044	308	1376	22,38	24	1,744	
d8	1009	391	1441	27,13	41	2,845	
d8	1062	323	1397	23,12	22	1,574	
Summe	8265	3006	11091				

Mittelwert Markierungsindex : 25,45 % $\pm$ 5,32

Mittelwert Mitoseindex : 1,651 % $\pm$ 0,491

Colon: Std. 8

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a9	1002	208	1232	16,88	22	1,785	
a9	1005	233	1251	18,62	13	1,039	
b9							keine Markierung vgl. entspr. Prä- parate anderer Organe
b9							
c9	1018	313	1346	23,25	15	1,114	
c9	1034	241	1287	18,72	12	0,932	
d9	1022	299	1332	22,44	11	0,825	
d9	1021	255	1297	19,66	21	1,619	
Summe	8102	1549	9651				

Mittelwert Markierungsindex : 19,92 % $\pm$ 2,23

Mittelwert Mitoseindex : 1,219 % $\pm$ 0,356

Colon: Std. 9

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a10	1000	301	1310	22,97	9	0,687	
a10	1005	271	1291	20,99	15	1,161	
b10	1000	209	1234	16,93	25	2,025	
b10	1003	215	1230	17,47	12	0,975	
c10	1052	232	1290	17,98	6	0,465	
c10	1063	208	1281	16,23	10	0,780	
d10	1012	227	1253	18,11	24	1,915	
d10	1001	269	1279	21,03	9	0,703	
Summe	8136	1932	10068				

Mittelwert Markierungsindex : 18,96 % $\pm$ 2,23

Mittelwert Mitoseindex : 1,088 % $\pm$ 0,544

Colon: Std. 10

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a11	1001	269	1279	21,03	9	0,703	nachgeschnitten und kontrolliert
a11	1008	205	1220	16,80	17	1,393	
b11	1034	317	1371	23,12	20	1,458	nachgeschnitten und kontrolliert
b11	1028	286	1332	21,47	18	1,351	
c11	1027	349	1388	25,00	14	1,008	Epithel degeneriert
c11	1018	314	1346	23,32	12	0,891	
d11	1019	203	1235	16,43	13	1,052	
d11	1009	251	1275	19,68	15	1,176	
Summe	8144	2194	10338				

Mittelwert Markierungsindex : 20,85 % $\pm$ 2,87

Mittelwert Mitoseindex : 1,129 % $\pm$ 0,247

Colon: Std. 11

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a12	1015	215	1249	17,21	19	1,521	
a12	1013	240	1264	18,98	11	0,870	
b12	1011	250	1273	19,63	12	0,942	
b12	1005	258	1275	20,23	12	0,941	
c12	1011	249	1269	19,62	9	0,709	
c12	1008	251	1267	19,81	8	0,631	
d12	1003	271	1288	21,04	14	1,086	
d12	1006	295	1310	22,51	9	0,687	
Summe	8072	2029	10101				

Mittelwert Markierungsindex : 19,87 % $\pm$ 1,43

Mittelwert Mitoseindex : 0,923 % $\pm$ 0,267

Colon: Std. 12

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a13	1016	242	1261	19,19	3	0,237	
a13	1003	226	1237	18,27	8	0,646	
b13							keine Markierung
b13							vgl. entsprechende Präparate anderer Organe
c13	1024	243	1277	19,02	10	0,783	
c13	1010	271	1290	21,00	9	0,697	
d13	1016	324	1351	23,98	11	0,814	
d13	1001	322	1333	24,15	10	0,750	
Summe	6070	1628	7698				

Mittelwert Markierungsindex : 20,93 % $\pm$ 2,36

Mittelwert Mitoseindex : 0,654 % $\pm$ 0,194

Colon: Std. 13

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a14	1011	221	1241	17,80	10	0,805	
a14	1002	219	1226	17,86	5	0,407	
b14	1026	348	1385	25,12	11	0,794	
b14	1022	358	1393	25,69	13	0,933	
c14	1115	281	1411	19,91	15	1,063	nachgeschnitten
c14	1113	351	1480	23,71	16	1,881	
d14	1007	341	1366	24,96	18	1,317	nachgeschnitten
d14	1038	347	1404	24,71	19	1,353	
Summe	8334	2366	10700				

Mittelwert Markierungsindex : 22,47 % $\pm$ 3,15

Mittelwert Mitoseindex : 1,069 % $\pm$ 0,418

Colon: Std. 14

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a15	1006	304	1325	22,94	15	1,132	nachgeschnitten
a15	1005	273	1291	21,14	13	1,006	
b15	1013	304	1323	22,97	6	0,453	
b15	1230	361	1598	22,59	7	0,438	
c15	1008	307	1330	23,08	15	1,127	Präparat mit rotem Farbstich
c15	1001	309	1334	23,16	24	1,799	
d15	1018	340	1378	24,67	20	1,451	
d15	1003	289	1310	22,06	19	1,450	
Summe	8284	2487	10771				

Mittelwert Markierungsindex : 22,82 % $\pm$ 0,94

Mittelwert Mitoseindex : 1,107 % $\pm$ 0,447

Colon: Std. 15

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a16	1013	263	1290	20,38	14	1,085	
a16	1004	248	1268	19,55	16	1,261	
b16	1001	330	1346	24,51	15	1,114	
b16	1008	373	1390	26,83	9	0,647	
c16	1010	260	1281	20,29	11	0,858	roter Farbstich
c16	1003	279	1295	21,54	13	1,003	
d16	1007	275	1293	21,26	11	0,850	kontrolliert
d16	1062	283	1362	20,77	17	1,303	
Summe	8108	2311	10419				

Mittelwert Markierungsindex : 21,89 % $\pm$ 2,32

Mittelwert Mitoseindex : 1,015 % $\pm$ 0,207

Colon: Std. 16

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a17	1011	269	1285	20,93	5	0,389	kontrolliert
a17	1002	361	1382	26,12	19	1,374	
b17	1008	416	1437	28,94	13	0,904	
b17	1001	450	1464	30,73	13	0,887	
c17	1036	410	1466	27,96	20	1,364	
c17	1042	448	1511	29,64	21	1,389	
d17	1036	523	1570	33,31	11	0,706	
d17	1038	543	1595	34,04	14	0,877	
Summe	8174	3420	11594				

Mittelwert Markierungsindex : 28,95 % $\pm$ 3,90

Mittelwert Mitoseindex : 0,986 % $\pm$ 0,338

Zunge: Kontrolle

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
K1	1001	228	1251	18,22	22	1,758	
K1	1004	232	1255	18,48	19	1,513	
K2	1002	252	1288	19,56	34	2,639	
K2	1009	248	1286	19,28	29	2,255	
K3	1003	216	1241	17,40	22	1,772	
K3	1011	223	1252	17,81	18	1,437	
K4	1009	234	1269	18,43	26	2,048	
K4	1022	245	1298	18,87	31	2,388	
Summe	8061	1878	10140				

Mittelwert Markierungsindex : 18,50 % $\pm$ 0,67

Mittelwert Mitoseindex : 1,976 % $\pm$ 0,400

Zunge: Std. -2

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
A1	1006	0	1006	0,000			nicht genügend auswertbare Zellen vorhanden
A1	556	0	556	0,000			
B1							Präparat fehlt
B1							
C1							Präparat schlecht auf dem Objektträger aufgebracht: nicht auswertbar
C1							
D1	1000	0	1000	0,000			
D1	1019	1	1020	0,098			
Summe	3581	1	3582				

Mittelwert Markierungsindex : 0,024 % $\pm$ 0,04

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. -1

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
A2	1001	0	1001	0,000			
A2	1003	1	1004	0,100			
B2	1005	0	1005	0,000			starker Back- ground
B2	1000	0	1000	0,000			
C2	1001	0	1001	0,000			
C2	1021	0	1021	0,000			
D2							Schrägschnitt: nicht auswertbar Kein besseres Präp. zu bekommen
D2							
Summe	6031	1	6032				

Mittelwert Markierungsindex : 0,017 % $\pm$ 0,037

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 0

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a1	1003	1	1004	0,100			
a1	1000	0	1000	0,000			
b1							Präparat fehlt
b1							
c1	1002	0	1002	0,000			
c1	1006	0	1006	0,000			
d1	1002	0	1002	0,000			teilweise hoher Background
d1	1001	0	1001	0,000			
Summe	6014	1	6015				

Mittelwert Markierungsindex : 0,017 % $\pm$ 0,037

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 1

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a2	1000	1	1001	0,100			
a2	1004	3	1007	0,298			
b2	1000	0	1000	0,000			teilw. sehr hoher Background
b2	999	1	1000	0,100			
c2							Präparat fehlt
c2							
d2	997	3	1000	0,300			teilw. sehr hoher Background, Schrägschnittbe- reiche mit ausgew.
d2	999	1	1000	0,100			
Summe	5999	9	6008				

Mittelwert Markierungsindex : 0,150 % $\pm 0,11$

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 2

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a3	992	9	1001	0,899			
a3	994	9	1003	0,897			
b3	1003	0	1003	0,000			
b3	1004	0	1004	0,000			
c3							
c3							Schrägschnitt: nicht auswertbar
d3	841	159	1000	15,900			wegen Schrägschnitt nur wenig auswert- bare Zellen.
d3	174	41	215	19,070			
Summe	5008	218	5226				

Mittelwert Markierungsindex : 6,128 % $\pm$ 8,09

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 3

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a4	695	305	1000	30,500			
a4	655	349	1004	34,761			
b4	693	321	1014	31,657			
b4	679	325	1004	32,371			
c4							Schrägschnitt: nicht auswert- bar
c4							
d4							Schrägschnitt: nicht auswert- bar
d4							
Summe	2722	1300	4022				

Mittelwert Markierungsindex : $32,322 \pm 1,55$

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 4

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a5	729	275	1004	27,390			sehr hoher Back- ground, teilweise
a5	701	302	1003	30,110			kl. Schrägschnitt- abschn. mitgezählt
b5							nicht auswertbar
b5							
c5	597	403	1000	40,300			
c5	600	400	1000	40,000			
d5	345	277	622	44,534			zu wenig auswert- bare Zellen, wegen
d5	275	226	501	45,110			sehr hohem Background und Schrägschnitt
Summe	3247	1883	5130				

Mittelwert Markierungsindex : 37,906 $\pm$ 6,79

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 5

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a6	638	365	1003	36,391			
a6	625	375	1000	37,500			
b6	616	384	1000	38,400			
b6	659	341	1000	34,100			
c6	656	344	1000	34,400			hoher Background
c6	620	380	1000	38,000			
d6	558	442	1000	44,200			
d6	592	408	1000	40,800			
Summe	4964	3039	8003				

Mittelwert Markierungsindex : 37,973 % $\pm$ 3,11

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 6

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a7	873	127	1000	12,700			sehr schwach markiert
a7	822	187	1009	18,533			
b7	772	235	1007	23,337			
b7	715	292	1007	28,997			
c7	545	455	1000	45,500			teilweise Schräg- schnittbereiche mitgezählt
c7	590	410	1000	41,000			
d7	581	426	1007	42,304			sehr hoher Background
d7	609	391	1000	39,100			
Summe	5507	2523	8030				

Mittelwert Markierungsindex : 31,420 % $\pm$ 11,48

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 7

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a8	382	221	603	36,650			
a8	648	356	1004	35,458			
b8	690	312	1002	31,138			
b8	711	283	994	28,471			
c8	676	324	1000	32,400			
c8	649	361	1010	35,743			
d8	583	422	1005	41,990			teilweise Schräg- schnittbereiche mitgezählt (mög- lichst mit Lumen)
d8	585	415	1000	41,500			
Summe	4924	2694	7618				

Mittelwert Markierungsindex : 35,418 % $\pm$ 4,43

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 8

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a9	630	382	1012	37,747			
a9	599	401	1000	40,100			
b9							sehr wenig markierte Zellen
b9							vgl. Leber
c9	775	225	1000	22,500			sehr hoher Background
c9	748	252	1000	25,200			
d9	864	136	1000	13,600			teilweise Schrägschnittbereiche mit Lumen ausgewertet
d9	870	130	1000	13,000			
Summe	4486	1526	6012				

Mittelwert Markierungsindex : 25,383 $\pm$ 10,56

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 9

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a10							Schnitt nicht auswertbar
a10							
b10	551	449	1000	44,900			
b10	510	490	1000	49,000			
c10	880	120	1000	12,000			
c10	914	86	1000	8,600			
d10	887	113	1000	11,300			
d10	876	124	1000	12,400			
Summe	4618	1382	6000				

Mittelwert Markierungsindex : 23,033 % $\pm$ 16,99

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 10

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a11	820	192	1012	18,972			
a11	798	102	1000	20,200			
b11	749	268	1017	26,352			
b11	779	225	1004	22,410			teilw. Schräg- schnittabschnitte mit Lumen ausge- wertet
c11	843	157	1000	15,700			
c11	852	148	1000	14,800			
d11	937	68	1005	6,766			teilw. Schräg- schnittabschnitte mit Lumen ausge- wertet
d11	895	105	1000	10,500			
Summe	6673	1365	8038				

Mittelwert Markierungsindex : 16,982 % $\pm$ 5,99

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 11

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a12	855	146	1001	14,585			
a12	867	133	1000	13,300			
b12	844	157	1001	15,684			nicht genügend auswertbare Zellen vorhanden
b12	517	99	616	16,071			
c12	850	150	1000	15,000			Schrägschnitt- bereiche mit Lumen ausgewer- tet
c12	877	123	1000	12,300			Schrägschnittbe- reiche mit Lumen ausgewertet
d12	870	130	1000	13,000			
d12	880	120	1000	12,000			
Summe	6560	1058	7618				

Mittelwert Markierungsindex : 13,992 ± 1,43

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 12

Tier	unmark. zellen	mark. zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a13	911	89	1000	8,900			einige kurze Schrägschnitt-
a13	890	110	1000	11,000			abschnitte mit- gezählt
b13							3H-Thymidin para:
b13							wenig markierte Zellen, hoher Background
c13	894	106	1000	10,600			
c13	923	83	1006	8,250			
d13	880	126	1006	12,525			
d13	885	117	1002	11,677			
Summe	5383	631	6014				

Mittelwert Markierungsindex : 10,492 % $\pm$ 1,49

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 13

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a14	888	117	1005	11,642			hoher Background
a14	909	94	1003	9,372			
b14	765	235	1000	23,500			sehr hoher Background
b14	805	195	1000	19,500			
c14	932	74	1006	7,356			
c14	920	84	1004	8,367			
d14	880	120	1000	12,000			Schrägschnitt- bereiche mit Lumen ausgewertet
d14	908	104	1012	10,277			
Summe	7007	1023	8030				

Mittelwert Markierungsindex : 12,740 % $\pm$ 5,34

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 14

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a15	324	46	370	12,432			nur wenige aus- wertbare Zellen
a15	482	68	550	12,367			(teilw. Schräg- schnitt. mitgez.)
b15	896	120	1016	11,811			
b15	899	101	1000	10,100			
c15	845	155	1000	15,500			
c15	831	169	1000	16,900			
d15	857	147	1004	14,641			teilw. kurze
d15	822	179	1001	17,882			Schrägschnitt- abschnitte mit- gezählt
Summe	5956	985	6941				

Mittelwert Markierungsindex : 13,954 ± 2,53

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 15

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a16	925	81	1006	8,052			hoher Background relativ dicker Schnitt
a16	911	89	1000	8,900			
b16	778	222	1000	22,200			
b16	727	273	1000	27,300			
c16	784	216	1000	21,600			
c16	793	207	1000	20,700			
d16	782	231	1013	22,804			
d16	787	213	1000	21,300			
Summe	6487	1532	8019				

Mittelwert Markierungsindex : 19,105 % $\pm$ 6,42

Mittelwert Mitoseindex :

Zunge: Std. 16

Tier	unmark. Zellen	mark. Zellen	Gesamt- zellzahl	Markierungs- index	Mitosen	Mitosen- index	Bemerkung
a17	671	329	1000	32,900			hoher Background
a17	659	341	1000	34,100			
b17	762	243	1005	24,179			hoher Background
b17	781	224	1005	22,289			
c17	531	290	821	35,323			abschnittsweise
c17	655	376	1031	36,469			Autoradiographie- fehler. nicht ge- nügend auswb. Zellen
d17	618	385	1003	38,385			
d17	604	408	1012	40,316			
Summe	5281	2596	7877				

Mittelwert Markierungsindex : 32,957 % $\pm$ 6,06

Mittelwert Mitoseindex :

8. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Adamson R.H., Ague S.L., Hess S.M., Davidson J.D.,
The Distribution, Excretion and Metabolism of
Hydroxyurea-C¹⁴. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 150,
322 (1965).
- 2) Adamson R.H., Davidson J.D., Ague S.L., Hess S.M.,
Excretion and Metabolism of Hydroxyurea in Animals.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 5, 1 (1965).
- 3) Bacchetti S., Whitmore G.F., The Action of Hydroxy-
urea on Mouse L-Cells. Cell Tissue Kinet. 2, 193
(1969).
- 4) Belt R.J., Haas C.D., Kennedy J., Taylor S.,
Studies of Hydroxyurea Administered by Continuous
Infusion. Cancer 46, 455 (1980).
- 5) Bersagel D.E., Frenkel E. P., Alfrey C.P.Jr.,
Megaloplastic Erythropoiesis Induced by Hydroxy-
urea (NSC-32065). Cancer Chemotherapy Rept. 40,
15 (1964).
- 6) Bertalanffy F.D., Mitotic Rates and Renewal Times
of the Digestive Tract Epithelia in the Rat.

Acta anat., 40, 130 (1960).

- 7) Bizzozero G., Wachstum und Regeneration im Organismus. Wiener med. Wschr. 44, 697 u. 744 (1894).
- 8) Brandt W.N., Flamm W.G., Berheim E.J., Hydroxyurea in Assessing Repair Synthesis of DNA in HeLa Cells. Chem. -Biol. Interactions 5, 327 (1972).
- 9) Bryant B.J., Reutilisation of Lymphocyte DNA by Cells of Intestinal Crypts and Regenerating Liver. J. Cell Biol. 18, 515 (1963).
- 10) Colvin M., Bono V.H., The Enzymatic Reduction of Hydroxyurea to Urea by Mouse Liver. Cancer Research 30, 1516 (1970).
- 11) Cowdry E.V., Problems of Aging. Williams and Wilkins, Baltimore (1942).
- 12) Cowdry E.V., Cells and their Behaviour. In: Pathology, Anderson, St. Louis: Mosby Comp. (1953).
- 13) Coyle M.B., Strauss B., Cell Killing and the Accumulation of Breaks in the DNA of HEp-2 Cells Incubated in the Presence of Hydroxyurea. Cancer

Res. 30, 2314 (1970).

- 14) Cress A.E., Gerner E.W., Hydroxyurea Inhibits ODC Induction, but not G_1 to S-Phase Transition. Biochemical and Biophysical Research Communications 87, No. 3, 773 (1979).
- 15) Dethlefsen L.A., Riley R.M., Hydroxyurea Effects in the C3H Mouse (I. Duodenal Crypt Cell Kinetics). Cell Tissue Kinetics 6, 3 (1973).
- 16) Dethlefsen L.A., Sorensen S.P., Riley R.M., Effects of Double and Multiple Doses of Hydroxyurea on Mouse Duodenum and Mammary Tumors. Cancer Res. 35, 694 (1975).
- 17) Dresler W.F.C., Stein R., Über den Hydroxyharnstoff. Justus Liebigs Ann. Chem. Pharmacol. 150, 242 (1869).
- 18) Eder M., Zellerneuerung im Magen-Darm-Trakt. Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 75 (1966).
- 19) Fabrikant J.I., The Spatial Distribution of Parenchymal Cell Proliferation During Regeneration of the Liver. The John Hopkins

Medical Journal 120, No.3, 137 (1967).

- 20) Fabrikant J.I., The Kinetics of Cellular Proliferation in Regenerating Liver. J. Cell Biol. 36, 551 (1968).
- 21) Farber E., Baserga R., Differential Effects of Hydroxyurea on Survival of Proliferating Cells in Vivo. Cancer Res. 29, 136 (1969).
- 22) Fishbein W. N., Carbone P.P., Freireich E.J., Misra D., Frei E., Clinical Trials of Hydroxyurea in Patients with Cancer and Leukemia. Clin. Pharmacol. Ther. 5, 574 (1964).
- 23) Ford S.S., Shackney S.E., Lethal and Sublethal Effects of Hydroxyurea in Relation to Drug Concentration and Duration of Drug Exposure in Sarcoma 180 in Vitro. Cancer Res. 37, 2628 (1977).
- 24) Fry R.M.S., Leshner S., Kisielski S.E., Sacher G., Cell Proliferation in the Small Intestine. in: Lamerton L.F., Fry R.J.M., (ed.): Cell Proliferation . A Guinness Symposium, Davis, Philadelphia (1963).

- 25) Grisham J.W., Inhibitory Effect of tritiated Thymidine on Regeneration of the Liver in the Young Rat. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 105, 555 (1960).
- 26) Hartenstein R., Pfundmair K., Possinger K., Partialsynchronisation von Tumorzellen in vivo mit Hydroxyharnstoff. Zeitschrift für Krebsforschung und klinische Onkologie: 88, 261 (1977).
- 27) Hill R.B., Gordon J.A., Effect of Hydroxyurea in Regenerating Rat Liver. Exp. Molec. Pathol. 9, 71 (1968).
- 28) Hilscher B., Hilscher W., Delbrück G., Lerouge-Bernard B., Autoradiographische Bestimmung der S-Phasen-Dauer der Genozyten bei der Wistarratte durch Einfach- und Doppelmarkierung. Z. Zellforsch. 125, 229 (1972).
- 29) Hinrichs H.R., Petersen R.O., Baserga R., Incorporation of Thymidine into DNA of Mouse Organs. Archives of Pathology 78, 245 (1964).
- 30) Iseler G., Untersuchungen zur Synchronisation der DNA-Synthese in der regenerierenden Rattenleber

nach Hydroxyharnstoff-Dauerbehandlung. Inaugural-Dissertation LMU München (1977).

- 31) Jacobs S.J., Rosenkranz H.S., Detection of a Reactive Intermediate in the Reaction Between DNA and Hydroxyurea. Cancer Res. 30, 1084 (1970).
- 32) Jacquez J.A., Transport and Enzymic Splitting of Pyrimidine Nucleosides in Ehrlich Cells. Biochim. Acta 61, 265 (1962).
- 33) Kim J.H., Gelbard A.S., Perez A.G., Action of Hydroxyurea on the Nucleic Acid Metabolism and Viability of HeLa-Cells. Cancer Res. 27, 1301 (1967).
- 34) Kim J.H., Perez A.G., Djordjevic B., Studies on Unbalanced Growth in Synchronized HeLa Cells. Cancer Res. 28, 2443 (1967).
- 35) Kisielewski W.E., Baserga R., Lisco H., Tritiated Thymidine and Study of Tumors. Atompraxis 7, 81 (1961).
- 36) Koburg E., Maurer W., Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Thymidin über die Dauer der

Deoxyribonukleinsäure-Synthese und ihrem zeitlichen Verlauf bei den Darmepithelien und anderen Zelltypen der Maus. *Biochemica et Biophysica Acta* 61, 229 (1962).

- 37) Krakoff I.H., Brown N.C., Reichard P., Inhibition of Ribonucleosid Diphosphate Reductase by Hydroxyurea. *Cancer Research* 28, 1559 (1968).
- 38) Leblond C.P., Stevens C.E., The constant renewal of the Albino Rat. *Anat. Rec.* 100, 357 (1948).
- 39) Leblond C.P., Messier B., Kopriwa B., Thymidine -H-3 as a Tool for investigation of renewal of Cell Populations. *Lab. Invest.* 8, 296 (1959).
- 40) Leshner S., Fry R.J.M., Kohn H.J., Age and the Generation Time of the Mouse Duodenal Epithelial Cell. *Exp. Cell Res.* 24, 334 (1961).
- 41) Leshner S., Fry R.J.M., Sacher G.A., Effects of Chronic Gamma Irradiation on the Generation Cycle of the Mouse Duodenum. *Exp. Cell Res.* 25, 398 (1961).
- 42) Lipkin M., Quastler H., Cellpopulation Kinetics

- in the Colon of the Mouse. J. Clin. Invest. 41, 141 (1962).
- 43) Löbbbecke E.-A., Schultze B., Maurer W., in:
Eder M., Zellerneuerung im Magen-Darm-Trakt.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 75 (1966).
- 44) Maurer W., Primbsch E., Größe der β -Selbst-
absorption bei der 3-H- Autoradiographie.
Exp. Cell Res. 33, 8 (1964).
- 45) Messier B., Leblond C.P., Cell Proliferation and
Migration as Revealed by Autoradiography after
Injection of Thymidine- H^3 into Male Rats and
Mice. Amer. J. Anat. 106, 247 (1960).
- 46) Moore R.C., Changes in the DNA Synthetic Period
during the Phase of Rapid Growth in Cultured
Diploid Fibroplastic Cells. Cell Tissue Kinet.
4, 491 (1971).
- 47) Oehlert W., Büchner Th., Mechanismus und zeit-
licher Ablauf der physiologischen Regeneration
im mehrschichtigen Plattenepithel und in der
Schleimhaut des Magen-Darmtraktes der weißen
Maus. Beitr. Path. Anat. u. allg. Path. 125,

374 (1961).

48) Pelc S.R., Quantitative Aspects of Autoradiography. Exp. Cell Res. Suppl.4, 231 (1957).

49) Pelc S.R., Appleton T.C., Distribution of Tritiated Thymidine in Various Tissues. Nature 205, 1287 (1967).

50) Pfeiffer S.E., Tolmach L.J., Inhibition of DNA Synthesis in HeLa Cells by Hydroxyurea. Cancer Res. 27, 124 (1967).

51) Philips F.S., Sternberg S.S., Schwartz H.S., Cronin A.P., Sodergren J.E., Vidal P.M., Hydroxyurea. I. Acute Cell Death in Proliferating Tissues in Rats. Cancer Res. 27, 61 (1967).

52) Pilgrim Ch., Lennartz K.J., Wegener K., Hollweg S., Maurer W., Autoradiographische Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen des H-3-Index und des Mitose-Index bei Zellarten der ausgewachsenen Maus, des Ratten-Fetus, sowie bei Ascites-Tumorzellen. Z. Zellforsch. 68,138 (1965).

- 53) Pilgrim Ch., Maurer W., Autoradiographische Untersuchungen über die Konstanz der DNS-Verdopplungsdauer bei Zellarten von Maus u. Ratte durch Doppelmarkierung mit ^3H -Thymidin und ^{14}C -Thymidin. Exp. Cell Res. 37, 5183 (1965).
- 54) Quastler H., Sherman F.G., Cell Population Kinetics in the Intestinal Epithelium of the Mouse. Exp. Cell Res. 17, 420 (1959).
- 55) Rabes H., Untersuchungen zur humoralen Regulation bei regenerativem und malignem Wachstum. Veröff. morph. Path. 73, 1 (1967).
- 56) Rabes H.M., Beeinflussung der Proliferationsaktivität normaler und maligner Gewebe durch Hypophysektomie. Z. Krebsforsch. 72, 176 (1969).
- 57) Rabes H.M., Tuczek H.V., Quantitative autoradiographische Untersuchungen zur Heterogenität der Leberzellproliferation nach partieller Hepatektomie. Virchows Arch. Abt.B,Zellpath. 6, 302 (1970).
- 58) Rabes H.M., Iseler G., Czichos S., Tuczek H.V., Synchronization of Hepatocellular DNAsynthesis in Regenerating Rat Liver by Continous Infusion

- of Hydroxyurea. Cancer Res. 37, 1105 (1977).
- 59) Rajewsky M.F., Synchronization in-Vivo: Kinetics of a Malignant Cells System Following Temporary Inhibition of DNA-Synthesis with Hydroxyurea. Exptl. Cell Res. 60, 269 (1970).
- 60) Rajewsky M.F., Hülser D.F., Fabricius E., Untersuchungen zur Synchronisation in-vivo: Temporäre Inhibition der DNA-Synthese durch Hydroxyharnstoff in normalen und malignen Säugerzellsystemen. Z. Krebsforsch. 76,266 (1971).
- 61) Rajewsky M.F., Grimeisen A., Remmer J., Modificatiton of Proliferative Parameters by Temporary Inhibition of DNA-Synthesis. Studia Biophys. 31/32, 367 (1972).
- 62) Rosenkranz H.S., Jacobs S.J., Carr H.S., Studies with Hydroxyurea. VIII. The Deoxyribonucleic Acid of Hydroxyureatreated Cells. Biochim. Biophys. Acta 161, 428 (1968).
- 63) Rosenkranz H.S., Rosenkranz S., Degradation of DNA by Carbamoyloxyurea - an Oxydation Product of Hydroxyurea. Biochim. Biophys. Acta 195, 266 (1969).

- 64) Rosenthal F., Wislicki L., Kollek L., Ueber die Beziehungen von schwersten Blutgiften zu Abbauprodukten des Eiweißes: Ein Beitrag zum Entstehungsmechanismus der Perniziösen Anämie. Klin. Wschr. 7, 972 (1928).
- 65) Rosner R., Rubin H., Parise F., Studies on the Absorption, Distribution and Excretion of Hydroxyurea. Cancer Chemother. Rep. 55, 167 (1971).
- 66) Rubini J.R., Cronkite E.P., Bond V. P., Fliedner T. M., The Metabolism and Fate of Tritiated Thymidine in Man. J. Clin. Invest. 39 909 (1960).
- 67) Rueckert R.R., Müller G.S., Studies on Unbalanced Growth in Tissue Culture, I. Introduction and Consequences of Thymidine Deficiency. Cancer Res. 30, 1584 (1960).
- 68) Schultze B., Oehlert W., Autoradiographic Investigation of Incorporation of H^3 -Thymidine into Cells of the Rat and Mouse. Science 131, 737 (1960).
- 69) Schultze B., Die Orthologie und Pathologie des

- Nukleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. In: Handbuch der allg. Pathologie II/5, 466, Springer, Berlin-Heidelberg-NewYork (1968).
- 70) Schultze B., Haack V., Schmeer A.C., Maurer W.,
Autoradiographic Investigation on the Cell
Kinetics of Crypt Epithelia in the Jejunum of
the Mouse. Cell Tissue Kinetics 5, 131 (1972).
- 71) Sinclair W.K., Hydroxyurea: Differential Lethal
Effects on Cultured Mammalian Cells during the
Cell Cycle. Science 105, 1729 (1965).
- 72) Sinclair W.K., Hydroxyurea: Effects on Chinese
Hamster Cells Grown in Culture. Cancer Res. 27,
Part 1, 297 (1967).
- 73) Staroscik N., Jenkins W. H., Mendelsohn M.L.,
Availability of Tritiated Thymidine after
Intervenous Administration. Nature 202, 456 (1964).
- 74) Steel G.G., Lamerton L.F., The Turnover of
Tritium from Thymidine in Tissues of the Rat.
Exp. Cell Res. 37, 117 (1965).

- 75) Stock C.C., Clarke D.A., Philips F.S.,
Barclay R.K., Myron S.A., Sarcoma 180 Screening
Data. Cancer Res. 20, 193 (1960).
- 76) Stone G.E., Miller O.L., Prescott D.M.,
H-3-Thymidine Derivate Pools in Relation to
Macronuclear DNA-Synthesis in Tetrahymena .
Pyriiformis. J. cell. Biol. 25, 171 (1965).
- 77) Takahashi M., Theoretical Basis for Cell Cycle
Analysis. J. theoret. Biol. 13, 202 (1966).
- 78) Takahashi M., Hogg J.D., Mendelsohn M.L.,
The Automatic Analysis of FLM-Curves. Cell
Tissue Kinet. 4, 505 (1971).
- 79) Terasima T., Tolmach L., Growth and Nucleic
Acid Synthesis in Synchronously Dividing Popu-
lations of HeLa Cells, Exp. Cell Res. 30, 344
(1963).
- 80) Walker I.G., Yatscoff R.W., Sridhar R.,
Hydroxyurea: Induction of Breaks in Template
Strands of Replicating DNA. Biochem. Biophys.
Res. Comm. 77, No.1, 403 (1977).

- 81) Walters R.A., Tobey R.A., Hildebrand C.E.,
Hydroxyurea Does Not Prevent Synchronized G₁
Chinese Hamster Cells from Entering the DNA
Synthetic Period. Biochem. Biophys. Res. Comm. 69,
No.1, 212 (1976).
- 82) Yarbrow J.W., Further Studies on the Mechanism
of Action of Hydroxyurea. Cancer Res. 28, 1082
(1968).
- 83) Young Ch. W., Hodas S., Hydroxyurea: Inhibitory
Effect on DNA Metabolism. Science 146, 1172 (1964).
- 84) Young Ch. W., Schochetman G., Hodas S., Balish M.E.,
Inhibition of DNA Synthesis by Hydroxyurea
Structure-Activity Relationships. Cancer Res.
27, 535 (1967).
- 85) Young Ch. W., Schochetman G., Karnofsky D.A.,
Hydroxyurea Induced Inhibition of Deoxyribo-
nucleotide Synthesis: Studies in Intact Cells.
Cancer Res. 27, 526 (1967).

LEBENS LAUF

Am 14.11.1953 wurde ich, Dieter Müller, als Sohn des Dipl. Landwirts Fritz Müller und seiner Frau Ella, geb. Frömert, in Feuchtwangen geboren.

1960 wurde ich in die Volksschule Feuchtwangen eingeschult. Nach vier Jahren wechselte ich auf das mathemat.-naturwiss. Gymnasium Dinkelsbühl über. Diese Schule schloß ich 1973 mit dem Abitur ab. Von 1974 - 1979 folgte an der LMU-München ein Studium der Germanistik und Anglistik. Im Frühjahr 1979 erhielt ich nach mehrfacher Bewerbung einen Studienplatz im Fach Humanmedizin an derselben Universität zugewiesen.

Am 11. 10. 1980 heiratete ich meine Frau Andrea, geb. Fuchs. Zwei Jahre später, am 2.9. 1982 wurde unser Sohn Sebastian geboren.

Am 9.5.1985 schloß ich mit dem mündlichen Teil des 3. Abschnitts der Ärztlichen Prüfung das Medizin-studium an der LMU-München ab. Die Approbation wurde am 20.5.1985 erteilt.

München, den 16. August 1985

